

การผลิตเอทานอลจากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ

PRODUCTION OF ETHANOL FROM PRETREATED
TARO PEELS



T149073



ลลิตา
เสาวลักษณ์
อารยา
หล้าพิ่ง
บุราคร
ชลนิกร

พ.ศ.
๑๙๖๑
๒๕๕๘

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... **149073**
วัน,เดือน,ปี..... **27 S.A. 2560**

b. ๗๒๘๗๙๗๒
.....
.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้โดยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ขอสงวนสิทธิ์ใน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงแก้ไขเอกสารโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ปีการศึกษา 2558

PRODUCTION OF ETHANOL FROM PRETREATED TARO PEELS



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2015
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|--------------------|--|
| หัวข้อโครงการพิเศษ | การผลิตเอทานอลจากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ Production of Ethanol from Pretreated Taro Peels |
| ชื่อนักศึกษา | นางสาว ลลิตา หล้าพิ่ง รหัสนักศึกษา 55050985 |
| | นางสาว เสาวลักษณ์ บุราคร รหัสนักศึกษา 55051026 |
| | นางสาว อารยา ชลนิกร รหัสนักศึกษา 55051046 |
| ปริญญา | วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) |
| ภาควิชา | เคมี |
| ปีการศึกษา | 2558 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) ประจำปีการศึกษา 2558

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|--|
| ผศ.ดร.สุวรรณี จรรย์ยาพน ประธานกรรมการ |  |
| ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ กรรมการ |  |
| ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา |  |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้สิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ มีอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเว็บไซต์และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|--------------------|--|
| หัวข้อโครงการพิเศษ | การผลิตเอทานอลจากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ |
| ชื่อนักศึกษา | นางสาว สลิตา หล้าพิ่ง รหัสนักศึกษา 55050985 นางสาว เสาวลักษณ์ บุราคร รหัสนักศึกษา 55051026 นางสาว อารยา ชลนิกร รหัสนักศึกษา 55051046 |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) |
| ภาควิชา | เคมี |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| มหาวิทยาลัย | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| ปีการศึกษา | 2558 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ |

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ การศึกษาปัจจัยที่มีผลการปรับสภาพเปลือกเผือก และการศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสของเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ จากการศึกษาผลของการปรับสภาพเปลือกเผือก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ คือการแช่น้ำกลั่นนาน 60 นาที ที่สภาวะดังกล่าวการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 โมลาร์ จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยเท่ากับ 643.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และการหมักสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกด้วยยีสต์ผงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง จะได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 8.28 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ : การปรับสภาพ น้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---------------|---|
| Title | Production of Ethanol from Pretreated Taro Peels |
| Students | Miss Lalita Lumpueng Student ID 55050985 |
| | Miss Saowaluk Burakhon Student ID 55051026 |
| | Miss Araya Chonnikorn Student ID 55051046 |
| Degree | Bachelor of Science (Environmental Chemistry) |
| Department | Chemistry |
| Faculty | Science |
| University | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) |
| Academic Year | 2015 |
| Advisor | Asst.Prof.Dr.Usarat Thawornchaisit |

Abstract

Production of ethanol from pretreated taro peels was studied in this special project. The study divided into two main parts, factors affecting pretreatment of taro peels and production of ethanol from reducing sugars derived from the hydrolysis of pretreated taro peels. Results from pretreatment of taro peels showed optimal condition to produce reducing sugars was soaking with distilled water for 60 minutes. At this condition, hydrolysis of pretreated taro peels with 0.1 M sulfuric acid yields an average amount of reducing sugar of 643.18 mg per g dry weight. Fermentation of the reducing sugar solution obtained from hydrolysis of the pretreated taro peels by dried yeasts for 96 hours yields highest ethanol contents of 8.28 grams per liter.

Keywords : Ethanol, Pretreatment, Reducing sugar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สำเร็จลุล่วงได้ ทางคณะผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องและให้ความอนุเคราะห์กับโครงการพิเศษ ดังนี้ ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ได้กรุณาสละเวลาให้ความรู้และคำแนะนำแนวทางตลอดการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณพี่น้องวิทยุประจำสาขาวิชาเคมีที่ช่วยจัดหาและให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์สารเคมีต่างๆ อีกทั้งยังอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆสำหรับทำโครงการพิเศษ ขอขอบคุณเพื่อนๆที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการ

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ครอบครัวผู้เป็นที่รัก ผู้ที่ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีจนโครงการพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษในครั้งนี้จะประโยชน์แก่ผู้ที่ได้อ่านไม่มากนักน้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางผู้จัดทำขอภัยไว้ ณ ที่นี้และขอน้อมรับคำติชมด้วยความยินดี ขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ลลิตา หล้าพิ่ง
เสาวลักษณ์ บุราคร
อารยา ชลนิกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

| | หน้า |
|--|-----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ข |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ค |
| สารบัญ..... | ง |
| สารบัญตาราง..... | จ |
| สารบัญรูป..... | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์..... | 1 |
| 1.3 ขอบเขต..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 3 |
| 2.1 เอทานอล..... | 3 |
| 2.1.1 ประเภทของเอทานอล..... | 3 |
| 2.1.2 การผลิตเอทานอลเพื่อให้ได้เป็นเชื้อเพลิง..... | 4 |
| 2.2 ยีสต์..... | 10 |
| 2.2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ..... | 10 |
| 2.2.2 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์..... | 11 |
| 2.3 เชื้อ..... | 12 |
| 2.3.1 ชนิดของเชื้อ..... | 12 |
| 2.3.2 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ..... | 13 |
| 2.3.3 พื้นที่การเพาะปลูก และผลผลิตของเชื้อในประเทศไทย..... | 14 |
| 2.3.4 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของหัวเชื้อและเปลือกเชื้อ..... | 15 |
| 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 16 |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย | 18 |
| 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี..... | 18 |
| 3.1.1 อุปกรณ์..... | 18 |
| 3.1.2 สารเคมี..... | 18 |
| 3.2 วัตถุประสงค์..... | 19 |
| 3.3 แผนการดำเนินงานวิจัย..... | 19 |
| 3.4 การศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเชื้อต่อชนิดและปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์..... | 22 |
| 3.4.1 ศึกษาผลการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นที่ระยะเวลาต่างกัน..... | 22 |
| 3.4.2 ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันที่ระยะเวลา ไม่เท่ากัน..... | 22 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 3.4.3 | ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระยะเวลาต่างกัน | 22 |
| 3.5 | การเตรียมไฮโดรไลเสท (hydrolysate) จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ..... | 23 |
| 3.6 | การศึกษาการผลิตเอทานอลของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก | 23 |
| 3.6.1 | การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น | 23 |
| 3.6.2 | กระบวนการหมักเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน | 23 |
| 3.6.3 | กระบวนการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก | 24 |
| บทที่ 4 | ผลการวิจัยและการอภิปรายผล | 25 |
| 4.1 | ลักษณะของเปลือกเผือก | 25 |
| 4.2 | ผลการศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเผือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ | 25 |
| 4.2.1 | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS | 25 |
| 4.2.2 | ชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือก..... | 30 |
| 4.3 | การผลิตเอทานอลที่ได้จากน้ำตาลรีดิวซ์หลังผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส | 31 |
| 4.3.1 | ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการหมัก | 31 |
| 4.3.2 | ผลการหมักเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน..... | 32 |
| 4.3.3 | ผลการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก | 33 |
| บทที่ 5 | สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ | 36 |
| 5.1 | สรุปผลการทดลอง | 36 |
| 5.1.1 | ลักษณะของเปลือกเผือกที่นำมาทดลอง | 36 |
| 5.1.2 | การศึกษาผลของระยะเวลาและวิธีการปรับสภาพต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้..... | 36 |
| 5.1.3 | ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการหมัก | 36 |
| 5.1.4 | การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์..... | 36 |
| 5.2 | ข้อเสนอแนะ | 36 |
| | เอกสารอ้างอิง | 38 |
| | ภาคผนวก..... | 40 |
| | ภาคผนวก ก..... | 41 |
| | ภาคผนวก ข..... | 45 |
| | ภาคผนวก ค..... | 73 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 2.1 การเปรียบเทียบผลดีผลเสียในการย่อยด้วยกรด | 7 |
| 2.2 การเปรียบเทียบผลดีผลเสียในการย่อยด้วยเอนไซม์..... | 8 |
| 2.3 องค์ประกอบทางเคมีของหัวเผือก..... | 15 |
| 2.4 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของเปลือกเผือก..... | 16 |
| 4.1 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก ที่ผ่านการปรับสภาพ..... | 29 |
| 4.2 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น | 29 |
| 4.3 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดัน | 29 |
| 4.4 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10%..... | 30 |
| 4.5 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ..... | 30 |
| 4.6 ชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ | 31 |
| 4.7 จำนวนเซลล์ยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)..... | 32 |
| 4.8 จำนวนเซลล์ยีสต์ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)..... | 34 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| 2.1 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบต่างๆ | 5 |
| 2.2 ยีสต์แห้ง | 10 |
| 2.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า..... | 11 |
| 2.4 ลักษณะต้นเหือก..... | 13 |
| 2.5 พื้นที่การเพาะปลูกเหือก (ไร่)..... | 14 |
| 2.6 ผลผลิตของเหือก (ตัน)..... | 14 |
| 2.7 ผลผลิตของเหือก (ตัน/ไร่)..... | 15 |
| 3.1 แผนการศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเหือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.. | 20 |
| 3.2 แผนการศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเหือก | 21 |
| 4.1 เปลือกเหือกที่เหลือจากการผลิตขนมปัง | 25 |
| 4.2 กระบวนการเตรียมตัวอย่าง | 25 |
| 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเหือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น | 26 |
| 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเหือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน | 26 |
| 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเหือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % | 27 |
| 4.6 ลักษณะยีสต์สายพันธุ์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> กำลังขยาย 100 เท่า | 32 |
| 4.7 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตรที่ระยะเวลาในการหมักต่างๆ..... | 33 |
| 4.8 ปริมาณเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเหือก | 34 |
| 4.9 ปริมาณเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเหือก | 35 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เอทานอล จัดเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่ได้รับการส่งเสริมและสนับสนุนจากภาครัฐให้ใช้เป็นพลังงานทดแทน เพื่อเสริมสร้างความมั่นคงด้านพลังงานให้กับประเทศไทยอันเนื่องมาจากการใช้วัตถุดิบที่ผลิตได้ภายในประเทศ ดังจะเห็นได้จากมติคณะรัฐมนตรีเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม พ.ศ.2546 ได้เห็นชอบยุทธศาสตร์การส่งเสริมแก๊สโซฮอลล์ และกำหนดให้มีการใช้เอทานอลวันละ 1 ล้านลิตร ในปี พ.ศ. 2549 ทดแทนสาร Methy tertiary Butyl Ether (MTBE) ในน้ำมันเบนซินออกเทน 95 และทดแทนเนื้อน้ำมันในน้ำมันเบนซิน 91 ซึ่งต่อมาได้ปรับเป้าหมายการใช้เอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นวันละ 2.4 ล้านลิตรภายในปี พ.ศ. 2554 (กระทรวงพลังงาน, 2551) อีกทั้งแผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (2551-2565) ได้กำหนดเป้าหมายการส่งเสริมการใช้เอทานอลปริมาณ 9 ล้านลิตรต่อวันภายในปี พ.ศ.2565 (กระทรวงพลังงาน, 2551) ประโยชน์ของการใช้เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนนั้นจะช่วยลดการนำเข้า MTBE ที่ช่วยเพิ่มค่าออกเทนให้กับน้ำมัน ทำให้สามารถประหยัดเงินตราต่างประเทศในการนำเข้า MTBE และน้ำมันได้ นอกจากนี้ยังลดปัญหามลพิษทางอากาศ เนื่องจากพบว่าการใช้เอทานอลผสมในน้ำมันทดแทนสาร MTBE สามารถช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการเผาไหม้ของเครื่องยนต์ลดลงร้อยละ 20 และลดปริมาณไฮโดรคาร์บอนลงร้อยละ 10 เมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันเบนซินปกติ (กระทรวงพลังงาน, 2549)

เอทานอลที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงทั่วไปแปรรูปมาจากพืชจำพวกแป้ง และน้ำตาลรวมทั้งเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสโดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญคือ ยีสต์ เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีผลผลิตทางการเกษตรมากมาย ซึ่งหลายชนิดถูกนำมาแปรรูปเป็นอาหารหลากหลายประเภท ทำให้เกิดผลผลิตเหลือใช้ที่มีศักยภาพสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ เปลือกเผือกจัดเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปและผลิตอาหารจากหัวเผือก เปลือกเผือกจัดเป็นวัสดุที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงถึงร้อยละ 75.5 ± 82.4 (Tattiyakulet al., 2006) ซึ่งเมื่อนำมาปรับสภาพและย่อยด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้

จิราภา และคณะ (2558) พบว่าเมื่อนำเปลือกเผือกซึ่งผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 M จะได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณระหว่าง 950-1,130 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เนื่องจากการหมักเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกให้เป็นเอทานอลไม่ได้ศึกษาไว้ในงานวิจัยก่อนหน้า ดังนั้น โครงการพิเศษจึงได้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ

1.2 วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษาปริมาณและชนิดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

2) เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลโดยยีสต์ผงจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ผ่านการคัดค้านั้นถือว่าผิดกฎหมาย

1.3 ขอบเขต

- 1) วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการศึกษาคือเปลือกเห็ดที่เหลือจากกระบวนการผลิตขนมปัง
- 2) ศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพต่อชนิดและปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเห็ด
 - วิธีการปรับสภาพที่ศึกษา ได้แก่ การปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น, การปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดัน และการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 %
 - ระยะเวลาที่ใช้ปรับสภาพ ได้แก่ 15, 30 และ 60 นาที
 - กระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 M
 - โดยศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) และศึกษาชนิดและปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- 3) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเห็ดที่ผ่านการปรับสภาพและกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก
 - ยีสต์ที่ใช้ในการหมัก คือ ยีสต์เชิงพาณิชย์ ยี่ห้อ Saf-levure ชนิด *Saccharomyces cerevisiae*
 - หมักแบบกะ (Batch) โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่พีเอช 3.5 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - ศึกษาปริมาณเอทานอลด้วยวิธี Gas Chromatography (GC)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้แนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
- 2) ได้วัตถุดิบทางเลือกในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่สามารถนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล

เอทานอล มีชื่อสามัญคือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) ชื่อ IUPAC คือ เอทานอล (Ethanol) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (R-OH) เป็นหมู่ไวปฏิกิริยา (Functional group) สูตรโครงสร้างทางเคมีคือ C_2H_5OH ในสภาวะปกติ เอทานอลจะอยู่ในสถานะของเหลวใส ระเหยง่าย มีรสขม มีกลิ่นเฉพาะตัว ติดไฟ และให้เปลวไฟมีความร้อนประมาณ 7,100 แคลอรีต่อกรัม ละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ มีจุดเดือดที่ความดันบรรยากาศ 78.4 องศาเซลเซียส มีจุดเยือกแข็งที่ -117.3 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นเท่ากับ 0.7937 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตรที่ 15 องศาเซลเซียส มีค่าความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 0.794 กรัมต่อลิลลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาฟาเรนไฮต์ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 46.068 กรัม มีจุดหลอมเหลวที่ 114.3 องศาเซลเซียส และมีค่าออกเทนัมเบอร์ประมาณ 96-113

2.1.1 ประเภทของเอทานอล

โดยทั่วไปเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ที่ผลิตในทางอุตสาหกรรม สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทหรือ 4 เกรด ดังนี้คือ (ชัยวัฒน์, 2554)

- 1) Denatured spirit (88 °GL) นิยมใช้เพื่อการให้ความร้อนและแสงสว่าง
- 2) Fine alcohol (96.0-96.5 °GL) นิยมใช้ในทางการแพทย์และการผลิตเครื่องสำอาง
- 3) Industrial alcohol (96.5 °GL) นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรม โดยใช้เป็นตัวทำละลาย เป็นเชื้อเพลิง และใช้ในการเตรียมสารเคมีอื่นๆ

- 4) Absolute หรือ Anhydrous alcohol (99.7-99.8 °GL) นิยมใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการเผาไหม้ภายในเครื่องยนต์ เอทานอลจะถูกนำมาผสมกับน้ำมันเบนซิน เพื่อทดแทนสาร Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE) ที่เป็นตัวช่วยเพิ่มค่าออกเทนให้กับน้ำมัน ซึ่งจะช่วยประหยัดในเรื่องการนำเข้าของสาร MTBE และน้ำมันจากต่างประเทศที่มีราคาสูง แล้วยังช่วยลดการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำและลดปัญหามลพิษทางอากาศ เนื่องจากการใช้เอทานอลเข้าไปทดแทนสาร MTBE จะช่วยให้การเผาไหม้ของเครื่องยนต์สมบูรณ์มากขึ้นลดปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่จะเกิดขึ้นจากเครื่องยนต์ จากประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของน้ำมันแก๊สโซฮอล์ พ.ศ. 2551 ได้กำหนดน้ำมันแก๊สโซฮอล์ เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E10 เป็นน้ำมันจากการผสมกันระหว่างน้ำมันเบนซินกับเอทานอล ในอัตราส่วน 90 ต่อ 10 โดยปริมาตร แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ แก๊สโซฮอล์ 91 (ออกเทน 91) และ แก๊สโซฮอล์ 95 (ออกเทน 95) ส่วนกลุ่มที่ 2 น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E20 เป็นน้ำมันจากการผสมกันระหว่างน้ำมันเบนซินกับเอทานอล ในอัตราส่วน 80 ต่อ 20 โดยปริมาตร และกลุ่มที่ 3 น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E85 เป็นน้ำมันจากการผสมกันระหว่างน้ำมันเบนซินกับเอทานอล ในอัตราส่วน 15 ต่อ 85 โดยปริมาตร

หมายเหตุ °GL หมายถึง The degree Gay-Lussac ซึ่งสามารถวัดโดยใช้เครื่องไฮโดรมิเตอร์ (Hydrometer) โดยอ่านเป็นร้อยละ (%) โดยปริมาตรของเอทิลแอลกอฮอล์ในของผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำ ซึ่งปริมาณที่ระบุไว้ข้างต้นนี้ให้คิดแปลงเป็นค่าและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การผลิตเอทานอลเพื่อให้ได้เป็นเชื้อเพลิง

การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การผลิตเอทานอลทางเคมี และการผลิตเอทานอลทางชีวภาพ แต่งานวิจัยฉบับนี้มุ่งเน้นไปที่การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ มากกว่าการผลิตเอทานอลทางเคมี เนื่องจากวิธีทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการใช้คาร์โบไฮเดรตที่ได้จากวัตถุดิบในการเจริญเติบโต แล้วให้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ วัตถุดิบที่ใช้ล้วนแต่เป็นวัตถุดิบทางการเกษตร ที่มีราคาไม่สูงมากนัก โดยเฉพาะวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร เป็นการลดของเหลือทิ้งช่วยในการรักษาสสิ่งแวดล้อม รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชผลทางการเกษตร เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้วิธีทางชีวภาพจะยังทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลพลอยได้ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ทำน้ำแข็งแห้ง น้ำโซดาและสารตั้งต้นในปฏิกิริยาเคมี เป็นต้น วัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ผลิตเอทานอลแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

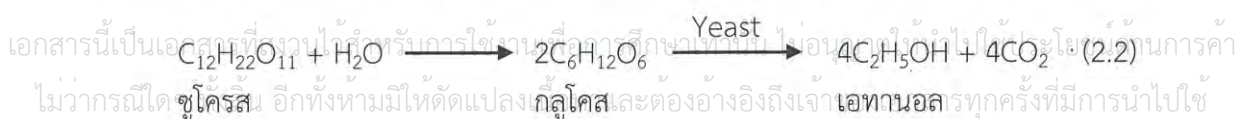
1. วัตถุดิบประเภทแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น วัตถุดิบพวกนี้ต้องผ่านการย่อยสลายให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อน โดยการใช้กรดหรือเอนไซม์จึงจะสามารถนำมาผลิตเอทานอลได้ โดยผ่านการหมักด้วยจุลินทรีย์ (เทพปัญญา, 2545) ดังสมการ (2.1) ซึ่งการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลสามารถแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน (รูปที่ 2.1) คือ

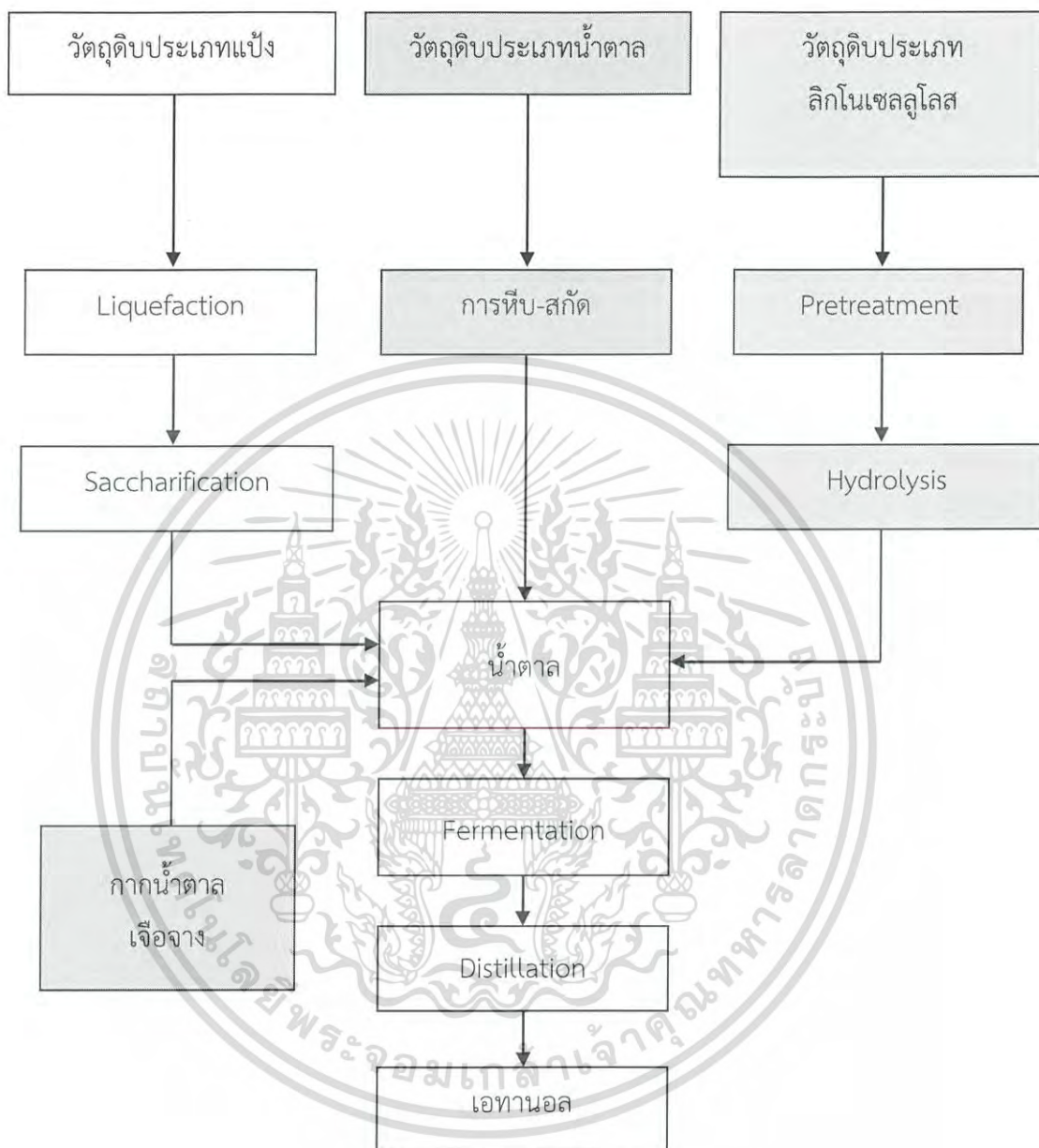


ก. การย่อยครั้งแรกหรือการทำให้เหลว (Liquefaction) เป็นขั้นตอนที่จะย่อยแป้งให้มีขนาดของโมเลกุลและความหนืดลดลง โดยใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะมิเลส (Alpha-amylase) ที่อุณหภูมิประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส ของเหลวที่ผ่านการย่อยในขั้นนี้จะมีค่าสมมูลเด็กโทรส (Dextrose equivalent, DE) อยู่ในช่วง 10-15% เรียกว่า มอลโตเด็กซ์ทริน (Maltodextrin)

ข. การย่อยครั้งสุดท้ายหรือการทำให้หวาน (Saccharification) ขั้นตอนนี้เป็นการใช้เอนไซม์กลูโคอะมิเลส (Glucoamylase) เข้าไปย่อยเพื่อให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวโดยระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยจะอยู่ระหว่าง 60-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุด การย่อยจะให้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์และเพื่อฆ่าเชื้อโรคที่อาจปนเปื้อนก่อนที่จะเข้ากระบวนการหมัก ซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลเมื่ออยู่ในสภาวะที่ปราศจากอากาศ

2. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล เช่น กรณีที่เป็นวัตถุดิบของแข็ง ได้แก่ อ้อย ช้างฟางหวาน หัวผักกาดหวาน ต้องผ่านการหีบ-สกัดก่อนเพื่อให้ได้น้ำตาล ในส่วนที่เป็นกากน้ำตาลนั้นต้องเจือจางก่อน เป็นต้น ดังรูปที่ 2.1 โดยจุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ในการหมักเอทานอลได้เลย โดยที่ไม่ต้องผ่านการย่อยให้กลายเป็นน้ำตาล (Pretreatment) ใดๆ น้ำตาลที่พบในวัตถุดิบเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลซูโครสซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอล (อิสรี, 2550) ดังสมการ (2.2)





รูปที่ 2.1 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบต่างๆ
ที่มา : เกื้อกุล และคณะ (2548)

3. วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ส่วนมากเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือจากโรงงาน เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา หญ้าแฝก เยื่อใยจากพืชชนิดต่างๆ วัสดุเหลือทิ้งจากโรงเลื่อย โรงงานทำกระดาษ กระดาษหนังสือพิมพ์และอื่นๆ ซึ่งวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ชนิดคือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) เซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่พบมากในผนังเซลล์พืช โครงสร้างโมเลกุลของไม้เซลลูโลสจะมีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีกิ่งก้านสาขาหรือเรียงตัวเป็นผลึก (Crystalline) ที่ประกอบไป

ด้วยหน่วยย่อยของกลูโคส หลายหน่วยต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ $\beta(1,4)$ -glycosidic ดังนั้น เซลลูโลสจึงไม่ละลายน้ำ เฮมิเซลลูโลสทำหน้าที่คล้ายตัวเชื่อมระหว่างลิกนินและเซลลูโลส โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสจะมีลักษณะสั้นและมีกิ่งก้านสาขามากหรือไม่เป็นผลึกรูปร่าง เฮมิเซลลูโลสจะประกอบไปด้วยน้ำตาลเฮกซอส (Hexose-C₆) และน้ำตาลเพนโตส (Pentose-C₅) ส่วนลิกนิน (Lignin) เป็นสารประกอบพอลิเมอร์เชิงซ้อน เป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งเป็นสารอะโรมาติก ลิกนินจะสร้างพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond) กับเฮมิเซลลูโลส ทำให้ลิกนินไม่มีสมบัติการยืดหยุ่น ซึ่งถ้าพืชมีลิกนินมากจะทำให้การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์หรือปฏิกิริยาทางเคมีเป็นไปได้ยากส่งผลให้เกิดปัญหาในการนำมาใช้ประโยชน์ ดังนั้นการนำลิกโนเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลจะมีกระบวนการที่เกี่ยวข้อง 4 ขั้นตอนดังรูปที่ 2.1

ก. การปรับสภาพ (Pretreatment) เป็นการปรับสภาพโครงสร้างของวัตถุดิบให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิส หรือเป็นกระบวนการสลายพันธะของสารประกอบลิกนินที่ห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้แตกออก เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นโดยการปรับสภาพนั้นจะต้องส่งผลต่อปริมาณเซลลูโลสน้อยที่สุด ซึ่งวิธีการปรับสภาพสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 วิธี ได้แก่ วิธีการทางกาย (Physical pretreatment) ที่มีจุดประสงค์หลักคือ การลดขนาดของวัตถุดิบชีวมวล และทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกช่วยเพิ่มพื้นที่ผิว เพื่อให้ง่ายต่อการเข้าไปไฮโดรไลซ์ทำปฏิกิริยาของสารเคมีหรือเอนไซม์ได้มากขึ้น การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physicochemical pretreatment) ที่ใช้วิธีการร่วมกันระหว่างวิธีการปรับสภาพทางกายภาพและวิธีการปรับสภาพทางเคมีมีส่วนสำคัญในการละลายน้ำของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่ถูกแปลงโครงสร้างแล้วเป็นผลทำให้การแตกตัวของเซลลูโลสในขั้นตอนไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น การปรับสภาพด้วยวิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment) ซึ่งจะใช้สารเคมี เช่น โซเดียม กรดเจือจาง ต่าง ตัวออกซิแดนท์ ในการกำจัดลิกนินและการปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological pretreatment) เป็นการใช้อินไซม์จากจุลินทรีย์ในการปรับสภาพสามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสและลิกนินได้

ข. การไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นการย่อยสลายเซลลูโลสหรือเฮมิเซลลูโลส เมื่อทำการย่อยเซลลูโลสจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโดยถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าการย่อยเกิดไม่สมบูรณ์จะเกิดทั้งกลูโคส เซลโลไบโอส และ โอลิโกแซคคาไรด์ ส่วนเฮมิเซลลูโลสนั้นจะได้น้ำตาลหลายชนิดผสมกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลสรวมทั้งสารอื่นๆที่เกิดขึ้นจากการย่อย สำหรับการย่อยมี 3 วิธี ได้แก่ วิธีการย่อยด้วยกรด วิธีการย่อยด้วยด่าง และวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์

1) การไฮโดรไลซิสด้วยกรด (Acid hydrolysis)

การย่อยสลายด้วยกรด เป็นการใช้กรดเจือจางภายใต้อุณหภูมิและความดันสูงหรืออาจจะเพิ่มความเข้มข้นของกรดขึ้น เพื่อลดอุณหภูมิและความดันให้ต่ำลงโดยจะเป็นการทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจนอะตอม ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ประมาณ 10-20 นาที ส่วนใหญ่การย่อยสลายแบบนี้ต้องการสภาวะที่รุนแรงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดเจือจางจะต้องนำไปทำปฏิกิริยาสะเทินก่อนกระบวนการหมัก แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ข้างเคียงหลายชนิด เช่น ฟิวรัล (Fufural) และไฮดรอกซีเมทิลฟิวรัล ที่เกิดจากการไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำจัดน้ำของน้ำตาลโดยเฉพาะน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลเพนโตส ซึ่งในระยะยาวสารเหล่านี้จะมีความเป็นพิษสูง

จากงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะที่ถูกควบคุมการไฮโดรไลซิสด้วยกรดของวัสดุ ลิกโนเซลลูโลสสามารถผลิตไซโลสจากไซแลนได้ โดยที่จะไม่เปลี่ยนเป็นเซลลูโลสและบางส่วนของลิกนินไซแลนจะเป็นส่วนที่ไวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส แม้มีปริมาณกรดน้อยเนื่องจากมันมีโครงสร้างเป็นแบบ อสังฐานเมื่อเปรียบเทียบกับเซลลูโลสที่ต้องใช้สภาวะที่รุนแรงกว่าเนื่องจากมันเป็นโครงสร้างที่เป็นผลึกสารละลายกรดที่นิยมใช้ คือ กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟิวริก เป็นต้น โดยมีผลดีและผลเสียจากการไฮโดรไลซิสด้วยกรดจะแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบผลดีผลเสียในการย่อยด้วยกรด

| ผลดี | ผลเสีย |
|---|---|
| 1. วัตถุดิบไม่ต้องผ่านการปรับสภาพก่อน | 1. ต้องใช้อุณหภูมิที่สูง (กรณีการใช้กรดอ่อน) |
| 2. ปฏิกิริยาเกิดเร็ว ง่าย และสั้น | 2. ถ้าใช้กรดแก่ต้องมีกระบวนการแยกกรด |
| 3. ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้มีราคาถูกและหาง่าย | 3. น้ำตาลที่ได้จะถูกเปลี่ยนเป็นสารอื่น เช่นเฟอฟูรัล และสารเคมีอื่นๆ |
| 4. ปฏิกิริยาสามารถทำให้เกิดได้ที่อุณหภูมิต่ำ (กรณีการใช้กรดแก่) | 4. ก่อนนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยไปใช้ต้องทำการปรับสภาพให้เป็นกลางก่อน |
| 5. ให้ผลิตภัณฑ์สูง (กรณีใช้กรดแก่) | 5. ผลพลอยได้ของปฏิกิริยาของการย่อยด้วยกรด เช่น เฟอฟูรัล เป็นพิษต่อเซลล์ |
| | 6. ต้องใช้เครื่องมือที่สามารถทนต่อการกัดกร่อนของกรดได้ ซึ่งราคาแพง |
| | 7. การกำจัดสารเคมีที่เหลือจากกระบวนการเคมีทำได้ยาก |
| | 8. ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่จำเพาะเจาะจงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่บริสุทธิ์ |

ที่มา: ระวีวรรณ, 2537

2) การไฮโดรไลซิสด้วยด่าง (Alkaline hydrolysis)

การย่อยสลายด้วยด่าง เป็นการใช้ด่างทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจนอะตอมเช่นเดียวกับการไฮโดรไลซิสด้วยกรด และการใช้สารละลายด่างในการย่อยนั้นจะเป็นการทำให้สายโพลีแซคาไรด์สั้นลง โดยปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นที่อุณหภูมิประมาณ 160-180 องศาเซลเซียสและต้องใช้ออกซิเจนเข้าร่วมในการทำปฏิกิริยาด้วย สารละลายด่างที่นิยมใช้ คือ เอทิลีนไดเอมีน (Ethylenediamine) แอมโมเนีย และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง เป็นต้น (ก่อสุข, 2553)

3) การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis)

ลิกโนเซลลูโลส มีองค์ประกอบสำคัญคือ เซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลสมีโครงสร้างที่เป็นกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-Glucosidic linkage ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์กลุ่มเซลลูเลส (Cellulase) ในการย่อยสลายเซลลูโลสปกติแล้วปฏิกิริยานี้จะเกิดภายในอุณหภูมิร่างกายในการย่อยสลายจึงต้องใช้เอนไซม์

หลายชนิดเนื่องจากเอนไซม์นั้นมีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยาสูง เอนไซม์เซลลูเลสพบทั่วไปในจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบมากในเชื้อรา ปกติในกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ประกอบด้วยการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส 3 กลุ่ม ที่ทำงานร่วมกันแบบ “Synergistic action” ได้แก่

- เอนโดกลูคาเนส (Endoglucanase หรือ cellobiohydrolase หรือ 1,4-β-D-glucan cellobiohydrolase) ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสโครงสร้างผลึกให้เป็นเซลลูโลสสายโซ่
- เอกโซกลูคาเนส (Exoglucanase หรือ 1,4-β-D-glucan-4-glucanohydrolase) ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสสายโซ่ให้เป็นเซลลูบิโอส
- เบต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidase หรือ cellobiase หรือ β-D-glucoside-4-glucohydrolase) ทำหน้าที่ย่อยเซลลูบิโอสให้เป็นกลูโคสเอนไซม์

การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส จะถูกยับยั้งด้วยปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นดังนี้ เบต้ากลูโคซิเดสจะถูกยับยั้งอย่างต่อเนื่องด้วยปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้น คือทำให้มีการสะสมของเซลโลไบโอสเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ จะต้องทำงานร่วมกันจึงจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดี แต่เมื่อแยกชนิดใดชนิดหนึ่งออกไปจะมีผลทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง โดยผลดีและผลเสียจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์จะแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบผลดีผลเสียในการย่อยด้วยเอนไซม์

| ผลดี | ผลเสีย |
|--|--|
| 1. สภาวะที่ใช้ทั้งอุณหภูมิและความเป็นกรดต่างไม่รุนแรง | 1. วัสดุต้องผ่านการปรับสภาพก่อน |
| 2. ปฏิกิริยามีความจำเพาะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง | 2. ผลิตภัณฑ์ที่ได้ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ (Product inhibition) |
| 3. ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่น | 3. สูญเสียเอนไซม์เนื่องจากดูดซับ (Absorbed) บนวัสดุที่ไม่ย่อย |
| 4. สามารถทำการหมักน้ำตาลไปพร้อมกับการย่อยได้ | 4. เสี่ยงต่อการปนเปื้อน (Contamination) ของเชื้อจุลินทรีย์ |
| 5. ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน | 5. ถ้าระบบมีสารที่เป็นตัวขัดขวางปฏิกิริยา เช่น เอมิเซลลูโลสหรือลิกนิน อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะช้าลง |

ที่มา: ระวีวรรณ, 2537

ค. การหมัก (Fermentation) เป็นกระบวนการที่ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็น เอทานอล ภายใต้สภาวะปราศจากอากาศหรือสภาวะที่อากาศมีอยู่อย่างจำกัด โดยการหมักสามารถแบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1) การหมักแบบกะ (Batch fermentation) เป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่องทำในระบบปิด มีสารอาหารเริ่มต้นจำกัด ไส้จุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงในระบบแล้วจะไม่มีการเติมสารอาหารเข้าไปอีก ทั้งหมดมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นการหมักแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมอาหารใหม่และถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา

3) การหมักแบบกึ่งกะ (Fed Batch fermentation) เป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปให้อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะๆ โดยไม่มีการถ่ายเอาอาหารเก่าออก (สมใจ, 2544)

ง. การกลั่น (Distillation) เป็นกระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลให้เป็น 95.5% โดยปริมาตร ซึ่งหลักการของการกลั่นคือ การใช้ความร้อนทำให้สารที่มีจุดเดือดต่ำกว่าระเหยออกไปก่อน แล้วไปควบแน่นผ่านคอนเดนเซอร์ (Condenser) จนกลายเป็นของเหลว แต่เอทานอลที่ผ่านการกลั่นโดยแบบการกลั่นลำดับส่วนนั้นยังไม่สามารถนำทดแทนสาร MTBE ภายในน้ำมันเบนซินได้ เนื่องจากมีความเข้มข้นเพียง 95.5% เท่านั้น จะต้องมีการนำไปทำให้บริสุทธิ์เพื่อทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลไม่ต่ำกว่า 99.5% โดยปริมาตร เทคโนโลยีที่ทำให้เอทานอลบริสุทธิ์ที่นิยมใช้มี 2 วิธี

1) กระบวนการแยกด้วยโมเลกุลาสีฟ (Molecular sieve separation) การพัฒนาโมเลกุลาสีฟ มีการใช้ ซีโอไลท์ (Zeolyte) ซึ่งเป็นตัวดูดความชื้นของอากาศ ซีโอไลท์ถูกพัฒนาในลักษณะ คือ ทำให้มีขนาดรูพรุนที่เท่าๆกันมากที่สุด (Bibb Swain, 1999) ลักษณะของการทำงานของโมเลกุลาสีฟเม็ดปิด (Bead) ของสารซีโอไลท์ เช่น โพแทสเซียมอลูมิซิลิเกต จะมีลักษณะกลมและมีรูพรุนอยู่บนผิว รูพรุนเหล่านี้จะมีขนาด 3 แองสตรอม ซึ่งโมเลกุลของน้ำที่มีขนาด 2.8 แองสตรอม จะมีความชอบกับรูพรุนเหล่านี้และจะถูกจับเข้าไปในรูพรุนเหล่านี้ได้ดี ส่วนเอทานอลจะมีขนาดของโมเลกุล 4.4 แองสตรอม จึงไม่มีความชอบกับรูพรุนและไม่สามารถเข้าไปในรูพรุนเหล่านี้ได้ โมเลกุลของน้ำจะถูกดูดซับอยู่ในเม็ดปิด และไอของเอทานอลที่ถูกดูดซับน้ำออกไปแล้ว จะผ่านออกมาจาก dehydrator ในการดูดซับน้ำของซีโอไลท์ จะเป็น exothermic คือทุก 1ปอนด์ น้ำถูกดูดซับจะมีการคายความร้อนออกมา 1800 BTU ปกติซีโอไลท์เหล่านี้สามารถดูดซับน้ำได้มากถึงร้อยละ 22 ของน้ำหนักตัวเอง ซีโอไลท์ดูดน้ำไว้มากพอแล้ว ต้องทำการถ่ายเทน้ำออก ทำได้โดยการผ่านไอร้อนของก๊าซเข้าไปเพื่อระเหยน้ำออกมา (รัชดาภรณ์, 2550)

2) กระบวนการแยกด้วยวิธีกลั่นสกัดแยกกับสารตัวที่สาม (Extractive distillation with the third component) เป็นการลดจุดเดือดของผสมให้ต่ำลง เมื่อให้ความร้อนของผสมและน้ำจะถูกระเหยออกไป เหลือเพียงเอทานอลเท่านั้น

3) การแยกน้ำโดยใช้เยื่อบางๆหรือเมมเบรน (Membrane pervaporator) สะดวก ใช้พลังงานน้อย หลักการทำงานของเมมเบรน (Permeate membrane) ร่วมกับการระเหย เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ถูกให้ความร้อนในช่วง 60-70 องศาเซลเซียส ทำการแยกผ่านเมมเบรน น้ำจะถูกแยกในสภาพที่เป็นไอผ่านเมมเบรน แล้วถูกควบแน่นออกมาในด้านขาออก โดยใช้ผลต่างของความดันเป็นแรงขับเคลื่อนในการแยก ซึ่งความดันขาออกเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มดูดอากาศออก น้ำจึงถูกแยกออกจากระบบ ในส่วนของเอทานอลไม่สามารถผ่านเมมเบรนออกไปได้จะถูกแยกน้ำด้วยเมมเบรนชุดต่อไปจนมีความบริสุทธิ์สูงร้อยละ 99.5 ข้อดีของกระบวนการทำเอทานอลให้บริสุทธิ์โดยระบบ Membrane pervaporator แก้ปัญหาการเกิด azeotrope ไม่ต้องใช้สารช่วยกลั่นและง่ายต่อการทำงาน (รัชดาภรณ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์พวก *facultative anaerobe* ซึ่งเป็นราชนิดหนึ่ง ยีสต์มีสัณฐานวิทยาที่ไม่ซับซ้อนเหมือนราชนิดอื่นๆ ส่วนใหญ่มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว (Unicellular form) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 ไมครอนและยาวประมาณ 8 ไมครอน มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม (Round) ทรงรี (Oval) สายยาว (Elongate) เป็นสาย (Filament) เป็นต้น

ยีสต์แห้ง (รูปที่ 2.2) มีลักษณะเป็นผง เกล็ด หรือชิ้นสีน้ำตาลอ่อน และมีกลิ่นของยีสต์ ผลิตจากเชื้อยีสต์ประเภทแซ็คคาโรไมซีส เซร์วิซิอี่ (*Saccharomyces cerevisiae*) หรือแซ็คคาโรไมซีสฟราจิลิส (*Saccharomyces fragilis*) หรือทอรูลาอุยทิลิส (*Torulautilis*) ที่ผ่านการทำให้แห้ง (Dehydration) และไม่เติมวัตถุอื่น (พิมพ์เพ็ญ, 2559)

ยีสต์ที่สำคัญ คือ *Saccharomyces cerevisiae* จัดเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้อย่างมากทั้งในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ สุรา นำไปใช้ทำขนมปังและอาหารหมักต่างๆ ปัจจุบันนำมาใช้ในอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง



รูปที่ 2.2 ยีสต์แห้ง

ที่มา: http://cdn.shopclues.net/images/detailed/17825/1_1432052758.jpg

2.2.1 ลักษณะโดยทั่วไป

Saccharomyces cerevisiae มีลักษณะรูปร่างของเซลล์ดังรูปที่ 2.2 จัดเป็นยีสต์แท้ (Hemiascomycetes) มีวงจรชีวิตได้ทั้งแบบ Haploid (n) ซึ่งมีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตรและ Diploid (2n) ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงรี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-6 ไมโครเมตร ส่วนมากจะพบในรูปของ Diploid ยกเว้นในระยะ Exponential phase นั้นมักจะพบวงจรชีวิตแบบ Haploid มากกว่า Diploid (ปริสา และคณะ, 2556) ซึ่งทั้งสองแบบนี้สามารถแตกหน่อ (Budding) ได้โดยเซลล์ลูกนั้นจะยื่นหน่อออกมาจากเซลล์แม่ มี Generation time (Doubling time) เท่ากับ 1.25-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเจริญเติบโตได้ง่าย การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore) หรือเบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากการคอนจูเกชัน (Conjugation) หรืออาจพัฒนาจาก Diploid ระยะเวเจเตทีฟแอสโคสปอร์มักมีรูปร่างกลมหรือไข่ มีจำนวน 1 ถึง 4 แอสโคสปอร์ต่อแอสคัส สปอร์มีลักษณะกลมจนถึงรี ผิวสปอร์เรียบสามารถใช้กลูโคสเป็นสับสเตรทเพื่อผลิตพลังงานภายใต้สภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ โดยในสภาวะที่มีอากาศยีสต์จะใช้น้ำตาลที่ได้เป็นแหล่งพลังงานและให้คาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในสภาวะที่ไม่มีอากาศยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลและพลังงาน ยีสต์ได้รับไนโตรเจนจากสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ไนโตรเจน เพื่อนำไปสร้างโปรตีน ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถใช้แอมโมเนียมไอออนได้ มีความสามารถในการใช้ในไตรต และไนไตรตรวมทั้งสามารถดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโน ยีสต์ไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส สูงสุดประมาณ 35 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 11-12 องศาเซลเซียส (ชญาดา, 2551)

2.2.2 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์

ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ในการหมักเอทานอล (สุวิชา และคณะ, 2552) เพื่อให้กระบวนการหมักมีประสิทธิภาพสูงสุดและได้ปริมาณเอทานอลสูงองค์ประกอบที่เป็นปัจจัยสำคัญและองค์ประกอบแวดล้อมอื่นๆ คือ

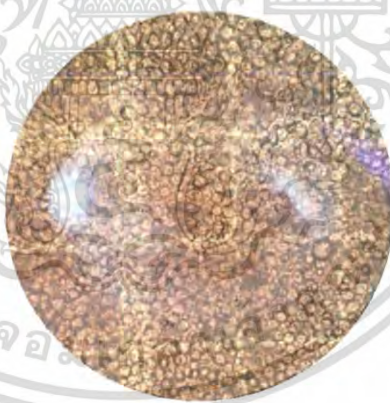
1) แหล่งคาร์บอน ในการหมัก ยีสต์จะใช้คาร์บอนจากน้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต ประเภทของน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ได้ ได้แก่

ก. น้ำตาลเฮกโซส

น้ำตาลที่ยีสต์นำมาใช้ในการเจริญเติบโตคือ น้ำตาลกลูโคส แต่น้ำตาลกลูโคสนี้ก็สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการใช้น้ำตาลชนิดอื่นของยีสต์ เมื่อในกระบวนการหมักมีการใส่น้ำตาลกลูโคสร่วมกับน้ำตาลชนิดอื่น ซึ่งนอกจากน้ำตาลกลูโคสแล้วยีสต์สามารถหมักน้ำตาลฟรุกโตส แมนโนส เป็นต้นได้

ข. น้ำตาลเพนโทส

ยีสต์หลายสายพันธุ์สามารถใช้น้ำตาลเฮกโซสในการผลิตเอทานอล ซึ่งจะได้ผลผลิตสูง อย่างไรก็ตามยีสต์ส่วนน้อยสามารถหมักน้ำตาลเพนโทสได้ ซึ่งยีสต์ที่ใช้น้ำตาลดังกล่าวได้ เช่น *P. tannophilus*, *C. shehatae*, *P. stipitis* เป็นต้น



รูปที่ 2.3 *Saccharomyces cerevisiae* ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า

2) ปริมาณไนโตรเจน เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น เป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นการหมักหรือการผลิตเอทานอล ในยีสต์จะมีปริมาณไนโตรเจนประมาณ 10% ของน้ำหนักแห้ง ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถใช้ในโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไอออนได้ ในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน

3) ปริมาณซัลเฟอร์ ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ 0.4% ดังนั้นซัลเฟอร์จึงเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์ แหล่งซัลเฟอร์พบได้จาก กรดแอมโมโนเมทาไทโอนีน เกลือซัลเฟต แมกนีเซียม แคลเซียมและวิตามิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เอดโด (Eddoe) เป็นเผือกที่มีหัวไม่ใหญ่และมีหัวเล็กกว่าล้อมรอบหลายหัวทุกหัวรับประทานได้และใช้ทำพันธุ์ได้

2. แดชีน (Dasheen) เป็นเผือกที่มีหัวขนาดใหญ่และมีหัวเล็กๆล้อมรอบ หัวใหญ่ใช้รับประทานส่วนหัวเล็กมักใช้ทำพันธุ์สำหรับเพาะปลูก เช่น เผือกหอมซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันโดยทั่วไป

เผือกในเมืองไทยมีผู้จำแนกไว้ 4 ชนิด (สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน, 2558)

1. เผือกหอม เป็นชนิดหัวใหญ่หนักหัวละประมาณ 2-3 กิโลกรัมมีหัวเล็กติดอยู่กับหัวใหญ่เล็กน้อยรับประทาน มีกลิ่นหอมกبابใหญ่สีเขียว

2. เผือกเหลือง หัวขนาดย่อมหัวสีเหลือง

3. เผือกไม้หรือเผือกโทหลา หัวมีขนาดเล็ก

4. เผือกตาแดง ที่ตาของหัวมีสีแดงเข้มมีหัวเล็กๆติดอยู่รอบหัวใหญ่เป็นกลุ่มจำนวนมากกبابในและเส้นใบสีแดง

2.3.2 ลักษณะทั่วไปของเผือก

เผือก เป็นพืชมีอายุอยู่ได้หลายฤดูลำต้นใต้ดินเจริญเติบโตกลายเป็นหัวและมีหัวเล็กๆล้อมรอบหัวมีขนาดและรูปร่างต่างกันออกไปแต่โดยทั่วไปจะมีรูปร่างตามรูปที่ 2.4 ปกติต้นสูง 0.4-2 เมตรใบใหญ่เป็นรูปหัวใจมีขนาดสีต่างๆกัน ใบเกิดจากใต้ดิน ดอกปกติประกอบด้วย 2-5 ช่อดอกอยู่ในก้านใบช่อดอกมีก้านยาว 15-30 เซนติเมตรดอกบานทยอยกันเรื่อยๆ ดอกตัวเมียมักจะไม่ค่อยมีดอกตัวผู้หนึ่งดอกมีก้านเกสรตัวผู้ 2-3 อัน ผลมีสีเขียวเปลือกบางไม่ค่อยมีเมล็ด



รูปที่ 2.4 ลักษณะต้นเผือก

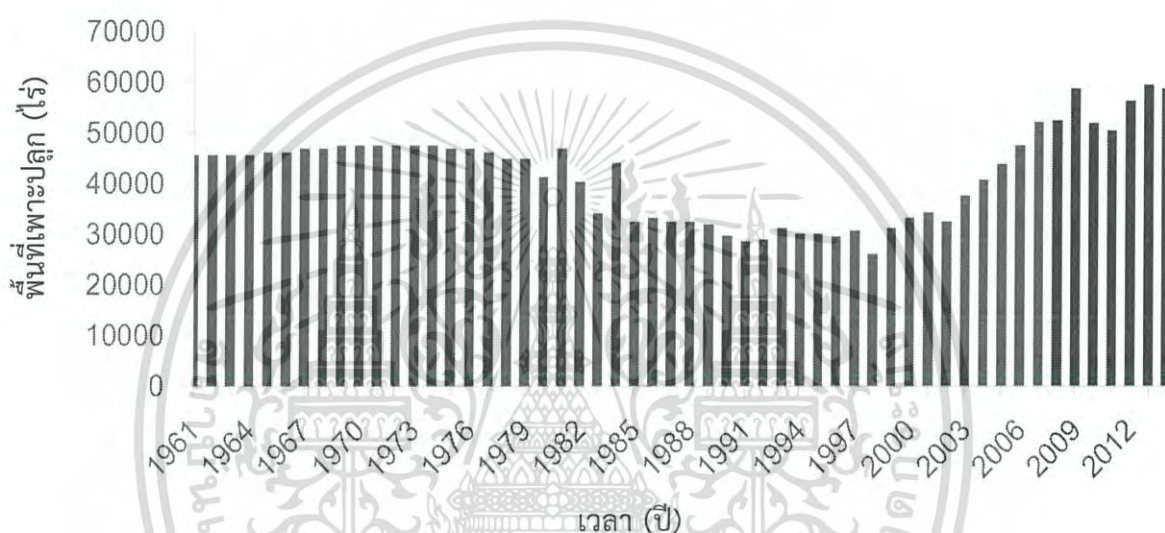
ที่มา: <https://en.wikipedia.org/wiki/Taro>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 พื้นที่การเพาะปลูก และผลผลิตของเผือกในประเทศไทย

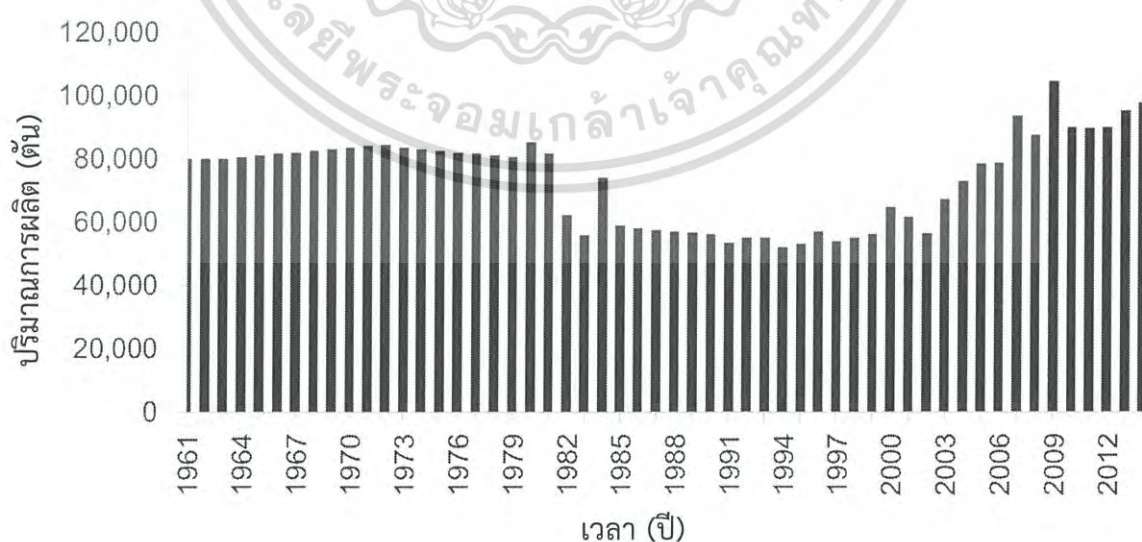
จากข้อมูลสำนักงานสถิติขององค์การอาหารและเกษตร แห่งสหประชาชาติ (The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, FAOSTAT) ตั้งแต่ปี ค.ศ.1961 จนถึงปีค.ศ.2014 พบว่าไทยติดอันดับเป็น 1 ใน 20 ประเทศที่มีการปลูกเผือกมากที่สุด โดยในปี ค.ศ. 1961 พบว่ามีพื้นที่เพาะปลูกเท่ากับ 45,625 ไร่ และในปี ค.ศ.2014 มีพื้นที่เพาะปลูกเท่ากับ 58,688 ไร่ (รูปที่ 2.5) ส่วนผลผลิตที่ได้มีค่าระหว่าง 51,973 ถึง 104,359 ตัน (รูปที่ 2.6) และผลผลิตต่อไร่ เท่ากับระหว่าง 1.60 ถึง 2.11 ตันต่อไร่ (รูปที่ 2.7)

นอกจากนี้ในปี ค.ศ.2000 ประเทศไทยมีการส่งออกหัวเผือกประมาณ 1,039 ตันคิดเป็นมูลค่า 14.8 ล้านบาทโดยส่งออกทั้งในรูปหัวเผือกก้านใบเผือกและใบ



รูปที่ 2.5 พื้นที่การเพาะปลูกเผือก (ไร่)

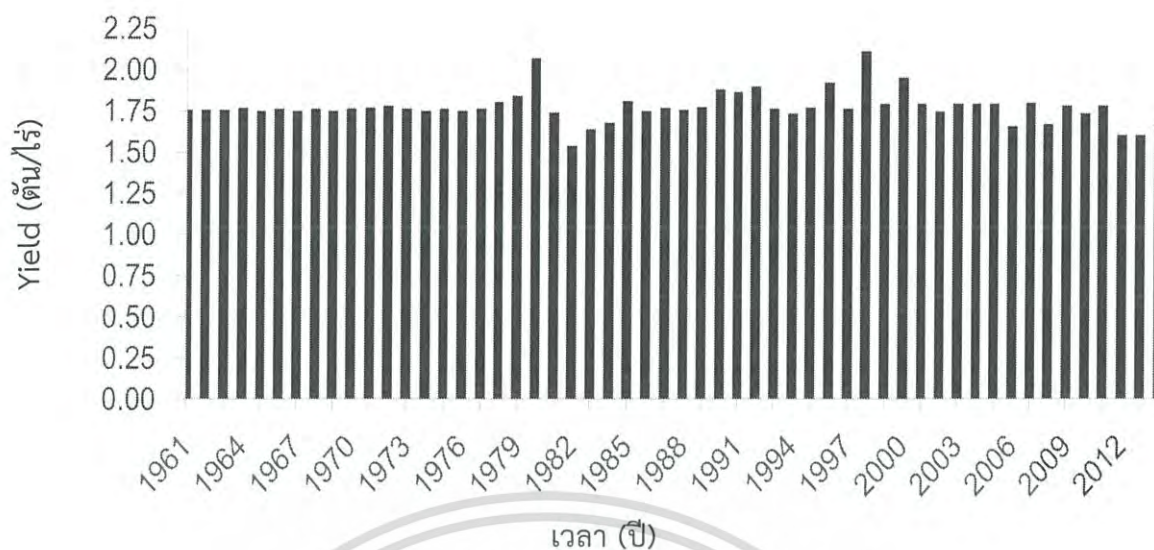
ที่มา : FAOSTAT, 2016



รูปที่ 2.6 ผลผลิตของเผือก (ตัน)

ที่มา : FAOSTAT, 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 ผลผลิตของเนื้อหมู (ตัน/ไร่)

ที่มา : FAOSTAT, 2016

2.3.4 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของหัวเนื้อหมูและเปลือกเนื้อหมู

องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของหัวเนื้อหมู แสดงดังตารางที่ 2.3 จะเห็นได้ว่าในหัวเนื้อหมูนั้นประกอบไปด้วย ความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ซึ่งในหัวเนื้อหมูจะมีความชื้นอยู่มากที่สุดถึง 85% เมื่อทำการไล่ความชื้นจะพบคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก รองลงมา คือ โปรตีน ซึ่งเมื่อคาร์โบไฮเดรตถูกนำมาย่อยให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต เอทานอลทางชีวภาพได้ จากการนำหัวเนื้อหมูมาแปรรูปจะมีวัสดุเหลือทิ้งหลังจากการแปรรูปแล้วนั่นก็คือ เปลือกเนื้อหมู ซึ่งคิดเป็น 30% ของหัวเนื้อหมู (Payne et al., 1941) โดยที่ในเปลือกเนื้อหมูนั้นจะมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดถึง 70% รองลงมา คือ โปรตีน ดังแสดงในตารางที่ 2.4 นอกจากนี้หัวเนื้อหมูและเปลือกเนื้อหมูมีปริมาณของโปรตีนและไขมันต่ำด้วยเหตุนี้ทำให้หัวเนื้อหมูไม่เหมาะสำหรับการนำไปประกอบอาหารที่ต้องการแหล่งโปรตีนและไขมันแสดงให้เห็นว่าเปลือกเนื้อหมูสามารถเพิ่มมูลค่าได้ด้วยการนำไปผลิตเป็นเอทานอล

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางเคมีของหัวเนื้อหมู

| องค์ประกอบ | % |
|--------------|-----------|
| ความชื้น | 63-85 |
| คาร์โบไฮเดรต | 13-29 |
| โปรตีน | 1.4-3.0 |
| ไขมัน | 0.16-0.36 |
| เยื่อใย | 0.60-1.18 |
| เถ้า | 0.6-1.3 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ส.ที่ ๒๕๕๒ ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของเปลือกเผือก

| องค์ประกอบ | ค่าที่วัดได้ (%) | | |
|--------------|---------------------|-------|----------------------------|
| | ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา | | Tattiyakilและคณะ (2006) |
| | 1* | 2* | |
| ความชื้น | 9.22±0.10 | 12.22 | ND |
| คาร์โบไฮเดรต | 71.93±2.40 | 69.50 | 75.5-8 2.4 |
| โปรตีน | 4.86±1.30 | 5.44 | 4.4-6.7 |
| ไขมัน | 0.30±0.04 | 0.12 | 0.5-0.8 |
| เยื่อใย | 7.29±1.32 | 6.82 | 1.3-3.4 |
| เถ้า | 6.41±0.19 | 5.90 | 1.0-5.0 |

ที่มา : จิราภา และคณะ, 2558

หมายเหตุ 1* วิเคราะห์โดยผู้ทำการทดลอง
2* ผลการวิเคราะห์โดยภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตรและการจัดการทรัพยากร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ND: Not determined

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิราภา และคณะ (2558) ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกโดยการบำบัดขั้นต้น คือ วิธีบำบัดขั้นต้นด้วยไอน้ำภายใต้แรงดันที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 15 ,30 และ 60 นาทีพบว่า องค์ประกอบของเปลือกเผือกที่นำมาศึกษามีปริมาณความชื้น 9.22 ± 0.10 โปรตีน 4.86 ± 1.30 ไขมัน 0.30 ± 0.40 เยื่อใย 7.29 ± 1.32 เถ้า 6.41 ± 0.19 และปริมาณ คาร์โบไฮเดรต 71.93 ± 2.40 % หลังจากนั้นเป็นการบำบัดด้วยไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % จะได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณระหว่าง 950-1,130 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

นันทิกา (2554) ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกระบวนการไฮโดรไลซิสของข้าวฟ่างหวาน ด้วยกรด โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ส่วน คือหนึ่ง การศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของข้าวฟ่างหวาน สองเป็นการปรับสภาพข้าวฟ่างหวานด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7, 10, 13, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ส่วนที่สามการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก โดยใช้การออกแบบการทดลองด้วยวิธี Box-Benken ในส่วนสุดท้ายการผลิตเอทานอลที่ได้จากน้ำตาลรีดิวซ์หลังกระบวนการไฮโดรไลซิส จากการศึกษาเราทราบองค์ประกอบขั้นต้นของข้าวฟ่างหวานประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เท่ากับ 53.83, 27.31 และ 15.24 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งหลังจากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮ-ดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า โครงสร้างที่ผลึกของเซลลูโลสลดลง และที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 13.45 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสในการไฮโดรไลซิส 3 ชั่วโมง จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 23.7565 เปอร์เซ็นต์ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง จากนั้นนำค่าความหวานจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการผลิตเอทานอล 2, 10, 15, 20 และ 25 องศาบริกซ์ มาหมักยีสต์ อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที 72 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักทั้งหมักมีผลต่อผลผลิตเอทานอลและต่อสภาพสีของเอทานอล ซึ่งผลการนำเอทานอลของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 20 องศาบริกซ์ จะได้เอทานอลสูงสุด 9.02 กรัมต่อลิตร

ก๋อสุช (2553) การศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกระบวนการหมักชางข้าวฟ่างหวานด้วยรา *Trichoderma harzianum* โดยอาศัยการออกแบบการทดลองตามวิธี Box-Behnken จากการหาองค์ประกอบเบื้องต้นของชางข้าวฟ่างหวานประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน คิดเป็น 52.57 ± 27.08 และ 15.46 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ นำมากำจัดเฮมิเซลลูโลสด้วยความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ของกรดซัลฟูริก ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที ส่วนที่เหลือ คือ เซลลูลิกนิน โดยองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน คิดเป็น 92.57 , 0.12 และ 3.56 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ นำเซลลูลิกนิน และเยื่อเซลลูโลส หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยรา *Trichoderma harzianum* พบว่าในเยื่อเซลลูโลส จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 10.34 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

ชุตินา (2551) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง โดยการแยกยีสต์จากตัวอย่างดิน มียีสต์จำนวน 33 สายพันธุ์ที่หมักเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มี 4 สายพันธุ์ที่หมักหมักเอทานอลได้ดี คือ PBB511-1, TM512-2, CPY514-1 และ TG514-2 ซึ่งหมักเอทานอลได้เท่ากับ 26.22 , 26.20 , 23.59 และ 22.51 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการทดลองเลือกยีสต์สายพันธุ์ PBB511-1 เนื่องจากยีสต์ที่ใช้ในการหมักเป็นยีสต์ที่แยกมาใหม่ ทดลองในปีที่ 1 จึงเป็นการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. ตู้อบ (Oven) รุ่น UN55 บริษัท Memmert, Germany
2. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) รุ่น Genesys 105 uv-vis บริษัท Thermo Scientific, United States of America
3. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น ML204/01 บริษัท Mettler Toledo
4. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น JSAC-60 บริษัท JSR, Korea
5. เตาให้ความร้อน (Hotplate) รุ่น 11-502-49H บริษัท Fisher Scientific, United States of America
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น 1000 series บริษัท Centurion
7. เครื่องปั่น/บด รุ่น KW-888 บริษัท Kashiwa, Thailand
8. เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น Orbital shaker บริษัท Gallenkamp, United Kingdom
9. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) รุ่น CH30RF200 บริษัท Olympus, Thailand
10. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench) รุ่น Astecair 5000F บริษัท Astec
11. ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) รุ่น Neubauer-improved bright-line บริษัท Marienfeld-superior, Germany
12. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) รุ่น CP-3800 บริษัท Varian
13. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) คอลัมน์ BP-800 Ca^{++} (24267) บริษัท Hitachi, Japan
14. ตู้ดูดควัน (Hood)
15. ตะแกรงร่อน (Sieve) ขนาด 20 mesh
16. โถดูดความชื้น (Desiccator)
17. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
18. บริภัณฑ์เครื่องแก้วและพลาสติก

3.1.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก 96% (H_2SO_4), AR grade, Carlo Erba, Italy
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH), AR grade, Carlo Erba, Italy
3. กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$), AR grade, Carlo Erba, Italy
4. โพแทสเซียมโซเดียมทราเทรต ($KNaC_4H_4O_6$), AR grade, Carlo Erba, Italy
5. กรดไดไนโตรซาลิซิลิก (3,5-dinitrosalicylic), AR grade, Carlo Erba, Italy
6. ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$), AR grade, Carlo Erba, Italy
7. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$), AR grade, Carlo Erba, Italy
8. เอทานอล 99.8% (C_2H_5OH), AR grade, Carlo Erba, Italy
9. เอนไพรพานอล (C_3H_8O), AR grade, Carlo Erba, Italy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใช้เห็นหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อภัยขมาใจที่ผิดเบี่ยงเบนเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วัสดุดิบ

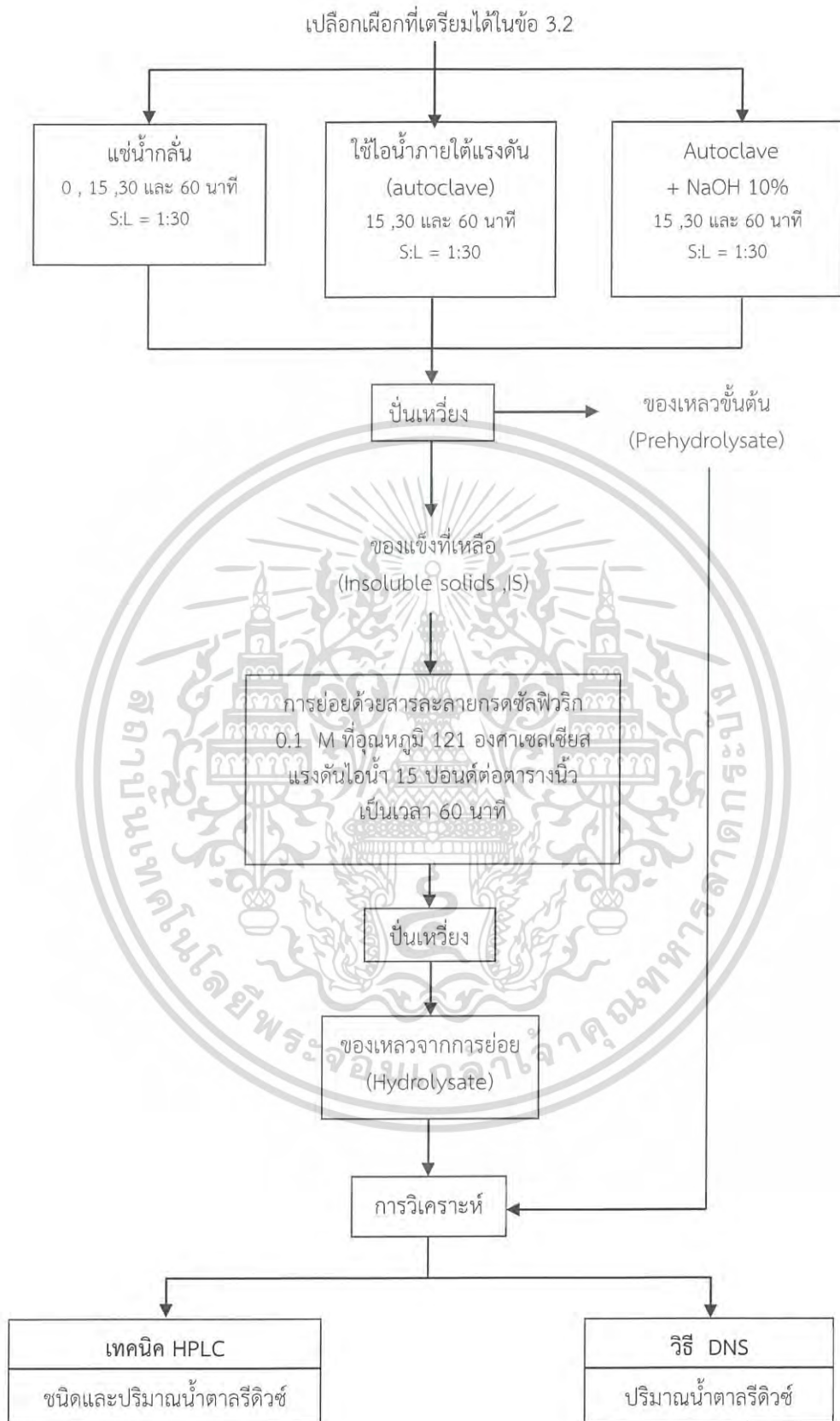
เปลือกเผือกที่เหลือจากการผลิตขนมปังได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทเพอร์ซิเดนท์ เบเกอร์รี่ จำกัด (มหาชน) เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ โดยนำเปลือกเผือกซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นสีน้ำตาลเข้มและมีเนื้อเผือกสีขาวติดอยู่มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ ตากแดดให้แห้ง และนำมาลดขนาดด้วยเครื่องปั่น นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20 เมช เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิด และใส่ไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 แผนการดำเนินงานวิจัย

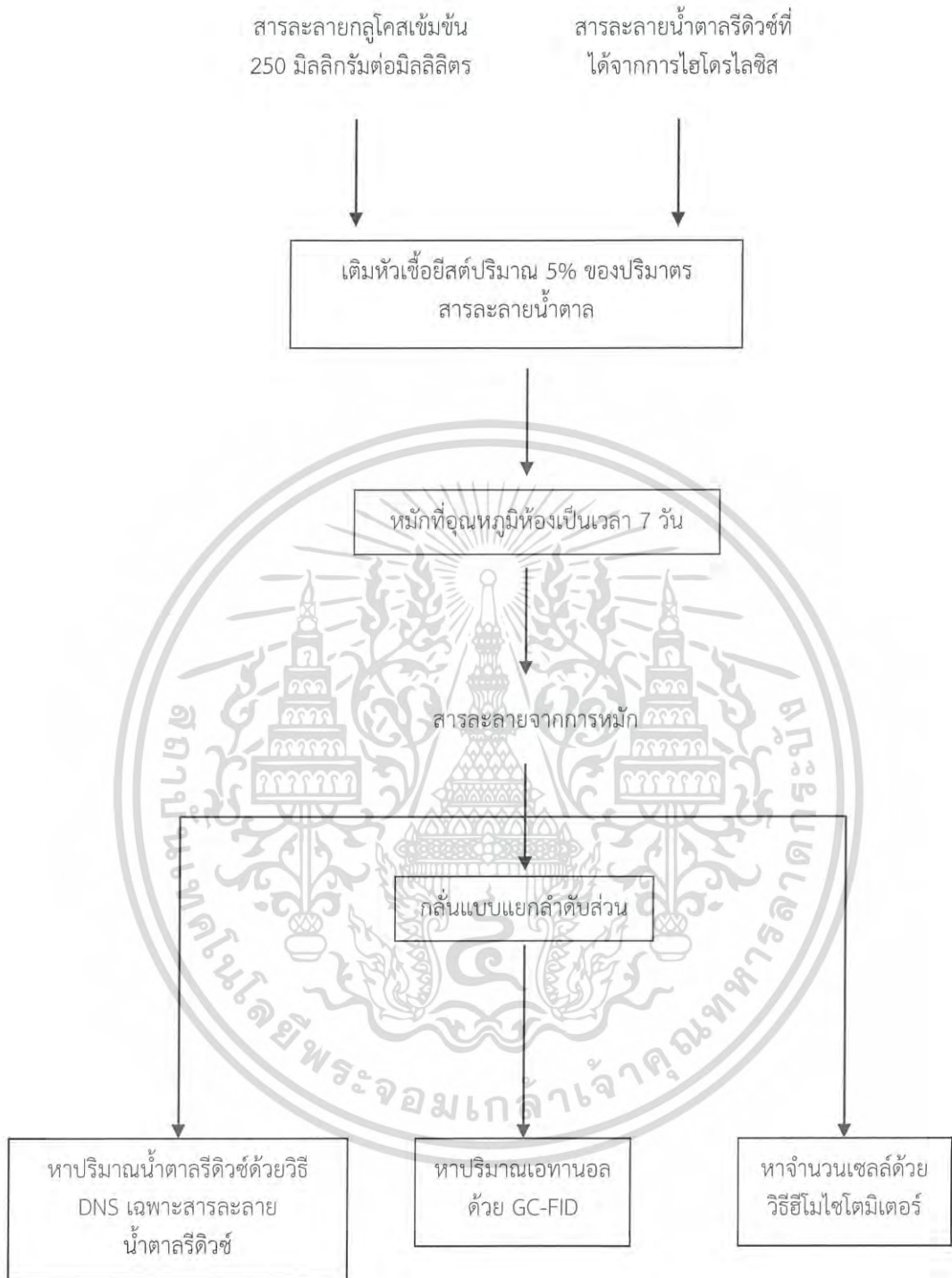
โครงการพิเศษนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ (1) การศึกษาผลของการปรับสภาพเปลือกเผือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และ (2) การศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิส โดยมีแผนภาพการดำเนินงานวิจัยดังรูปที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
รูปที่ 3.1 แผนการศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเปลือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งนี้หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยและต้องขออภัยถึงผู้จัดทำเอกสารฉบับนี้ที่การนำไปใช้

รูปที่ 3.2 แผนการศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเปลือก

3.4 การศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเปลือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.4.1 ศึกษาผลการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นที่ระยะเวลาต่างกัน

ซึ่งเปลือกเปลือกที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.2 ใส่ลงขวดดูแรน เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกเปลือก 1 กรัมต่อปริมาตรสารปรับสภาพ 30 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของของแข็ง กับของเหลวขั้นต้น (prehydrolysate) ออกจากกัน นำ prehydrolysate ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid Method (DNS) ตาม Miller (1959) (แสดงดังภาคผนวก ข.1) นำส่วนที่เป็นของแข็ง (insoluble solids, IS) ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปย่อยเพื่อผลิต hydrolysate ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 M รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 3.5 ทำซ้ำแต่เปลี่ยนเวลาในการตั้งทิ้งไว้ในข้อ 3. จาก 15 เป็น 30 และ 60 นาที ตามลำดับ

3.4.2 ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันที่ระยะเวลาต่างกัน

ซึ่งเปลือกเปลือกที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.2 ใส่ลงขวดดูแรน เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกเปลือก 1 กรัมต่อปริมาตรสารปรับสภาพ 30 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยไอน้ำภายใต้แรงดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของของแข็ง กับของเหลวขั้นต้น (prehydrolysate) ออกจากกัน นำ prehydrolysate ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS นำส่วนที่เป็นของแข็ง (insoluble solids, IS) ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปย่อยเพื่อผลิต hydrolysate ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 M รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 3.5 ทำซ้ำแต่เปลี่ยนเวลาที่ให้ความร้อนในข้อ 3. จาก 15 เป็น 30 และ 60 นาที ตามลำดับ

3.4.3 ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระยะเวลาต่างกัน

ซึ่งเปลือกเปลือกที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.2 ใส่ลงขวดดูแรน เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกเปลือก 1 กรัมต่อ ปริมาตรสารปรับสภาพ 30 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยไอน้ำใต้แรงดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของของแข็ง กับของเหลวขั้นต้น (prehydrolysate) ออกจากกัน นำ prehydrolysate ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS นำส่วนที่เป็นของแข็ง (insoluble solids, IS) ไปล้างด้วยน้ำกลั่นให้ได้ค่า pH เท่ากับ 7 และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และนำไปย่อยเพื่อผลิต hydrolysate ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 M รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 3.5 ทำซ้ำแต่เปลี่ยนเวลาที่ให้ความร้อนในข้อ 3. จาก 15 เป็น 30 และ 60 นาที ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การเตรียมไฮโดรไลเสท (hydrolysate) จากเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพ

ซึ่งเปลือกเปลือกที่ผ่านการอบแห้งในขั้นตอนที่ 3.4.1-3.4.3 มา 1 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 M ในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกเปลือก 1 กรัมต่อปริมาตรสารละลายกรดซัลฟิวริก 30 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยไอน้ำภายใต้แรงดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของของแข็ง กับของเหลว (hydrolysate) ออกจากกัน นำ hydrolysate ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS และวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี HPLC โดยเดินระบบด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water, DI) ปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่องเท่ากับ 20 μL ด้วยอัตราการไหล 0.4 mL/min ผ่านคอลัมน์ BP-800 Ca^{++} (24267) ขนาดกว้าง 7.8 mm ยาว 300 mm ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และตรวจวัดปริมาณสารที่ผ่านจากคอลัมน์ออกมาด้วยตัวตรวจวัดแบบ Refractive index (RI Detector) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

3.6 การศึกษาการผลิตเอทานอลของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเปลือก

3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

เตรียมสารละลายกลูโคสเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซึ่งกลูโคส 1.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมไดเอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ในปริมาณ 4 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล และแมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล พร้อมกับปรับพีเอชเป็น 3.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้แรงดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เทยีสต์ผงประมาณ 2 ถึง 3 กรัม นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที วิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีฮีโมไซโตมิเตอร์ จากนั้นนำไปใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักเอทานอล

3.6.2 กระบวนการหมักเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

เตรียมสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมไดเอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 4 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล และแมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล พร้อมกับปรับพีเอชเป็น 3.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้แรงดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 3.6.1 ให้มีปริมาณ 5 % ของปริมาตรสารละลายน้ำตาล ปิดจุกสำลีพร้อมกับห่อกระดาษพรอยดีให้แน่นหนาเพื่อไม่ให้อากาศเข้า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ หาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีฮีโมไซโตมิเตอร์ จากนั้นนำตัวอย่างไปกลั่นแยกแบบลำดับส่วน นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วย GC-FID Column size เป็น capillary column(DB-wax) เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 60 เมตร, Oven Temperature เท่ากับ 100 °C, Column Temperature เป็น 70 °C, Injection Temperature : 200 °C, Detector : Flame-ionized detector (FID), Carrier gas เป็นแก๊สฮีเลียมที่ความดันเท่ากับ 5 psi

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 กระบวนการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก

เตรียมสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ในส่วน hydrolysate ปริมาตร 50 มิลลิลิตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมไตแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 4 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล และแมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล พร้อมกับปรับพีเอชเป็น 3.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้แรงดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 3.6.1 ให้มีปริมาณ 5 % ของปริมาตรสารละลายน้ำตาล ปิดจุกสำลีพร้อมกับห่อกระดาษพรอยดีให้แน่นหนาเพื่อไม่ให้อากาศเข้า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีไฮโมไซโตมิเตอร์ จากนั้นนำตัวอย่างไปกลั่นแยกแบบลำดับส่วน นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วย GC-FID



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

โครงการพิเศษนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ (1) การศึกษาผลของการปรับสภาพเปลือกเปลือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และ (2) การศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์

ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิส ซึ่งผลการทดลองเป็นดังนี้

4.1 ลักษณะของเปลือกเปลือก

เปลือกเปลือกที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะเป็นเส้น สีน้ำตาลเข้ม ซึ่งมีเนื้อเปลือกสีขาวติดอยู่ด้วย (รูปที่ 4.1) เมื่อผ่านกระบวนการบด อบ และป็นจะได้ตัวอย่างเปลือกเปลือกขนาด 20 เมชเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อน แสดงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.1 เปลือกเปลือกที่เหลือจากการผลิตขนมปัง

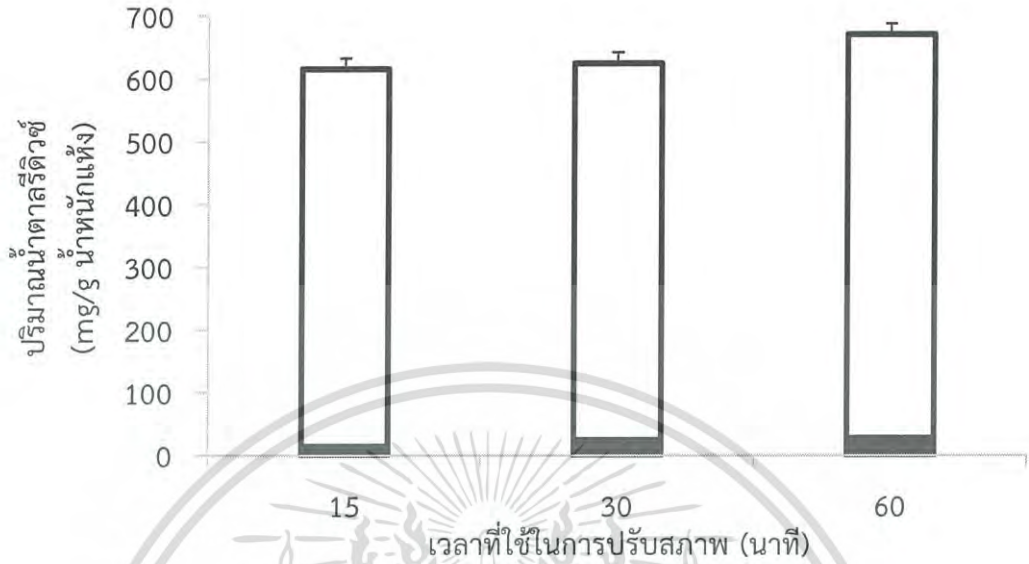
รูปที่ 4.2 กระบวนการเตรียมตัวอย่าง

4.2 ผลการศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพของเปลือกเปลือกต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้

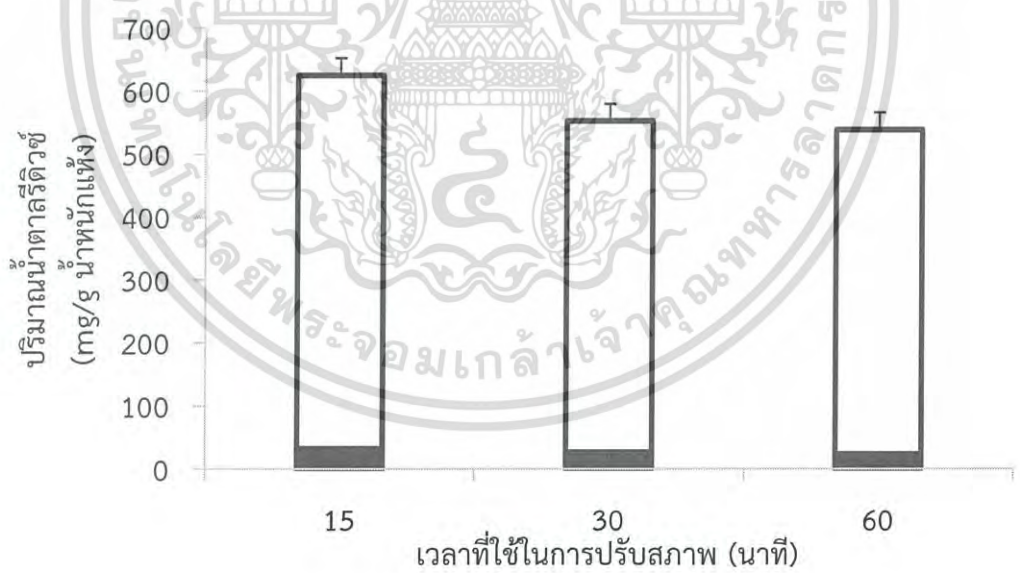
4.2.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS ในส่วนที่เป็นของเหลวขั้นต้น (Prehydrolysate) และของเหลวจากการย่อย (Hydrolysate) ที่ได้จากการย่อยเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการแตกต่าง 3 วิธี ได้แก่ การแช่น้ำกลั่น, การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน และ การใช้เอกซตรานี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10% ได้ผลดังรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ

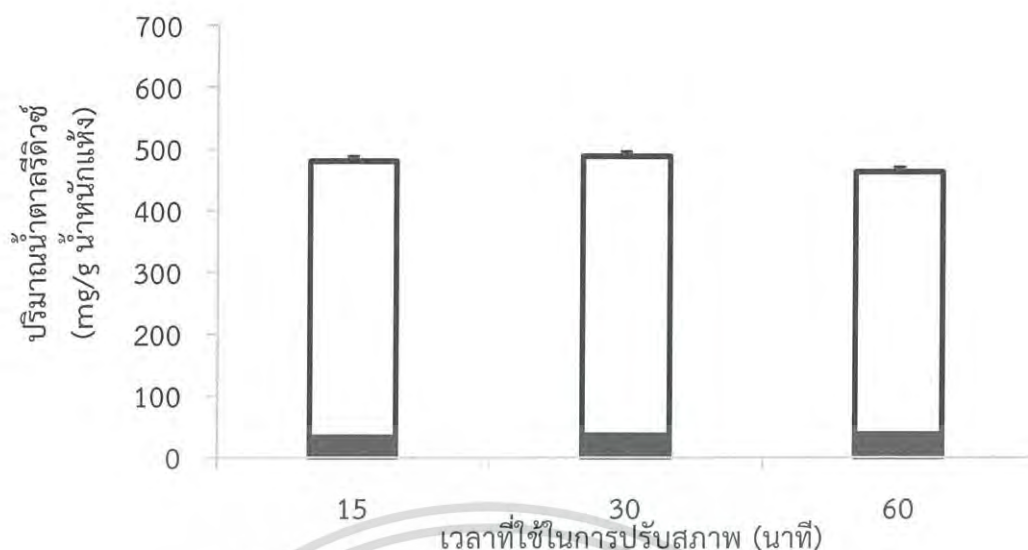


รูปที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลดีวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น Prehydrolysate (■) และ Hydrolysate (□)



รูปที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลดีวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน Prehydrolysate (■) และ Hydrolysate (□)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % Prehydrolysate (■) และ Hydrolysate (□)

จากรูปที่ 4.3 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จาก Prehydrolysate มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้แช่ในน้ำกลั่น การแช่ในน้ำกลั่นนาน 15 นาที จะได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 14.77 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเพิ่มเวลาในการแช่เป็น 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 24.88 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 27.79 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แสดงว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้แปรผันตรงกับระยะเวลาในการแช่ในน้ำกลั่น เมื่อระยะเวลาในการแช่ในน้ำกลั่นเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ส่วนเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อนำมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น เมื่อผ่านการย่อยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการแช่ในน้ำกลั่น 15 นาที เท่ากับ 601.42 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ที่ 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 600.24 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 643.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลที่ได้ เพราะปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (รายละเอียดการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ข.1 ในตารางที่ ข.1 และ ข.4)

จากรูปที่ 4.4 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จาก Prehydrolysate มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่ใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน นาน 15 นาที จะได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 32.11 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเพิ่มเวลาในการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันเป็น 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 26.71 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 23.69 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แสดงว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้แปรผกผันกับระยะเวลาในการใช้ไอน้ำ ภายใต้แรงดัน เมื่อระยะเวลาในการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้กลับลดลง ส่วนเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อนำมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังการย่อยมีแนวโน้มลดลง เช่นเดียวกับ Prehydrolysate โดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน

15 นาที เท่ากับ 593.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ที่ 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 525.67 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 643.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลที่ได้ เพราะปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (รายละเอียดการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ข.1 ในตารางที่ ข.2 และ ข.5)

จากรูปที่ 4.5 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จาก Prehydrolysate มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% นาน 15 นาที จะได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 32.89 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเพิ่มเวลาในการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% เป็น 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 35.81 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 37.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แสดงว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้แปรผันตรงกับระยะเวลาในการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เพิ่มขึ้นด้วย ส่วนเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพเมื่อนำมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น โดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% 15 นาที เท่ากับ 447.30 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ที่ 30 นาที และ 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 452.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 425.38 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลที่ได้ เพราะปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (รายละเอียดการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ข.1 ในตารางที่ ข.3 และ ข.6)

จากการทดสอบทางสถิติด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพ พบว่า วิธีการปรับสภาพมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\text{-value}=0.001$) ในขณะที่ระยะเวลาในการปรับสภาพและปฏิสัมพันธ์ระหว่างวิธีการปรับสภาพและระยะเวลาในการปรับสภาพส่งผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย เนื่องจากค่า $p\text{-value}$ ของทั้งสองพจน์มีค่ามากกว่า 0.05 แสดงดังตารางที่ 4.1 (รายละเอียดการทดสอบทางสถิติแสดงใน ตารางที่ ค.1 และ ค.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 201237.859 ^a | 8 | 25154.732 | 4.044 | .007 |
| Intercept | 8872092.805 | 1 | 8872092.805 | 1426.182 | .000 |
| วิธีการ | 129960.128 | 2 | 64980.064 | 10.445 | .001 |
| เวลา | 15645.289 | 2 | 7822.645 | 1.257 | .308 |
| วิธีการ * เวลา | 55632.441 | 4 | 13908.110 | 2.236 | .106 |
| Error | 111975.688 | 18 | 6220.872 | | |
| Total | 9185306.352 | 27 | | | |
| Corrected Total | 313213.547 | 26 | | | |

a. R Squared = .642 (Adjusted R Squared = .484)

ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพในแต่ละวิธีการปรับสภาพ พบว่า ระยะเวลาในการปรับสภาพไม่ส่งผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เนื่องจากมีค่า p-value มากกว่า 0.05 แสดงดังตารางที่ 4.2, 4.3 และ 4.4 (รายละเอียดการทดสอบทางสถิติตั้งแสดงใน ตารางที่ ค.3, ค.4 และค.5)

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 5185.075 | 2 | 2592.537 | 1.178 | .370 |
| Within Groups | 13204.909 | 6 | 2200.818 | | |
| Total | 18389.984 | 8 | | | |

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดัน

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 65079.486 | 2 | 32539.743 | 2.345 | .177 |
| Within Groups | 83243.373 | 6 | 13873.895 | | |
| Total | 148322.859 | 8 | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์ด้วยความแปรปรวนแบบสองทางของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10%

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | 1013.170 | 2 | 506.585 | .196 | .827 |
| Within Groups | 15527.406 | 6 | 2587.901 | | |
| Total | 16540.576 | 8 | | | |

ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี Two way-ANOVA และ Tukey HSD (รายละเอียดการทดสอบทางสถิติดังแสดงในตารางที่ ค.1) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพ

| วิธีการปรับสภาพ | ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) |
|---|--|
| แช่น้ำกลั่น | 637.4256 ^a |
| การใช้น้ำภายใต้แรงดัน | 605.3978 ^a |
| การใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% | 476.8756 ^b |

จากตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยที่ได้จากเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยต่ำที่สุดในขณะที่วิธีการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่น และการใช้น้ำภายใต้แรงดันให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใกล้เคียงกัน ได้ผลทางสถิติที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (a) ทั้งนี้เพราะว่าการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% อาจมีสารพิษรบกวนเปลือกเปลือกในระบบ ทำให้ผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้น้อย ในทางสถิติวิธีการปรับสภาพนี้ให้ผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(b)กับการแช่น้ำกลั่น และการใช้น้ำภายใต้แรงดัน แสดงว่า การปรับสภาพในกรณีของเปลือกเปลือกถือว่าไม่จำเป็น ทั้งนี้สาเหตุสำคัญอาจเป็นเพราะเปลือกเปลือกที่นำมาเป็นวัตถุดิบมีเนื้อเปลือกติดมาด้วย ทำให้เพียงแค่แช่น้ำกลั่นก็ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ซึ่งน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ส่วนใหญ่อาจมาจากเนื้อเปลือกที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ฝังอยู่ เพียงแค่แช่น้ำกลั่นก็ได้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นจำนวนมากแล้ว

4.2.2 ชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเปลือก

ผลจากการย่อยเปลือกเปลือกที่ผ่านการปรับสภาพทั้ง 3 วิธี ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก พบว่าสามารถย่อยเปลือกเปลือกให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ โดยชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) ได้ผลดังตารางที่ 4.6 (ลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ

| วิธีการปรับสภาพ | เวลา (นาที) | น้ำตาลกลูโคส (กรัม/ลิตร) | น้ำตาลกาแลกโตส (กรัม/ลิตร) | น้ำตาลอะราบินอส (กรัม/ลิตร) |
|---|----------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| แช่น้ำกลั่น | 15 | 11.34 | 0.36 | 0.10 |
| | 30 | 14.62 | 0.56 | 0.16 |
| | 60 | 15.00 | 0.53 | 0.13 |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน | 15 | 13.93 | 0.53 | 0.19 |
| | 30 | 11.62 | 0.44 | 0.25 |
| | 60 | 9.99 | 0.26 | 0.16 |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน ร่วมกับสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 10% | 15 | 12.80 | 0.00 | 0.03 |
| | 30 | 12.04 | 0.00 | 0.01 |
| | 60 | 10.31 | 0.01 | 0.00 |

จากตารางที่ 4.6 พบว่าชนิดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพทั้ง 3 วิธี ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลกาแลกโตสและน้ำตาลอะราบินอส เมื่อเปรียบเทียบผลของระยะเวลาในการปรับสภาพต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ พบว่าเมื่อนำเปลือกเผือกที่ผ่านการแช่น้ำกลั่นที่เวลาต่างๆกันมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก จะได้น้ำตาลรีดิวซ์ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสในปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการปรับสภาพ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโคปี (รูปที่ 4.3) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงตามเวลาการปรับสภาพจากการย่อยเปลือกเผือกที่ปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน (Autoclave) และ Autoclave ร่วมกับ NaOH 10% อาจเป็นผลมาจากการสลายตัวของน้ำตาล ดังเช่นได้จากงานวิจัยของ Woo et al. (2015) ที่ได้รายงานไว้ว่า สารละลายกลูโคส (20%w/v) สามารถเกิดการสลายตัวด้วยความร้อน ภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันสูง ในขณะที่การย่อยเปลือกเผือกที่ปรับสภาพด้วยวิธีการแช่น้ำกลั่นจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเมื่อใช้ระยะเวลาในการแช่นาน 60 นาที ด้วยเหตุนี้ทางผู้วิจัยจึงใช้สภาวะดังกล่าวในการผลิตสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ เพื่อนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ผงต่อไป

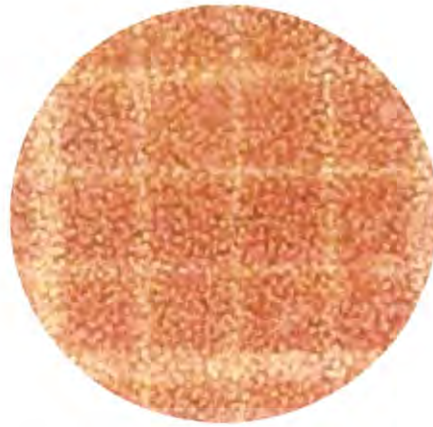
4.3 การผลิตเอทานอลที่ได้จากน้ำตาลรีดิวซ์หลังกระบวนการไฮโดรไลซิส

ผลการหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการแช่น้ำกลั่นนาน 60 นาที ได้ผลดังนี้

4.3.1 ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการหมัก

ลักษณะของยีสต์ที่เพาะขึ้นจากการเติมยีสต์ผงลงในสารละลายกลูโคสที่มีการเติมสารละลายกลูโคสเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และแมกนีเซียมซัลเฟต เพื่อใช้เป็นก้ำเชื้อในการหมัก เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย

100 เท่า ได้ผลดังรูปที่ 4.6 ทรัพยากรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ลักษณะยีสต์ที่ใช้ในการหมักที่กำลังขยาย 100 เท่า

จากรูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของยีสต์ที่เจริญเติบโต นาน 24 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ที่นำมาใช้ในการหมักน้ำตาลรีดิวซ์มีลักษณะเป็นทรงกลม ผลจากการนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์พบว่ามีจำนวนเซลล์ทั้งหมดเท่ากับ 9.41×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รายละเอียดการคำนวณจำนวนเซลล์ยีสต์ดังแสดงในภาคผนวก ข.3)

4.3.2 ผลการหมักเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

ผลการติดตามการเจริญเติบโตของยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 mg/L เป็นแหล่งคาร์บอน เป็นเวลา 7 วัน เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.7

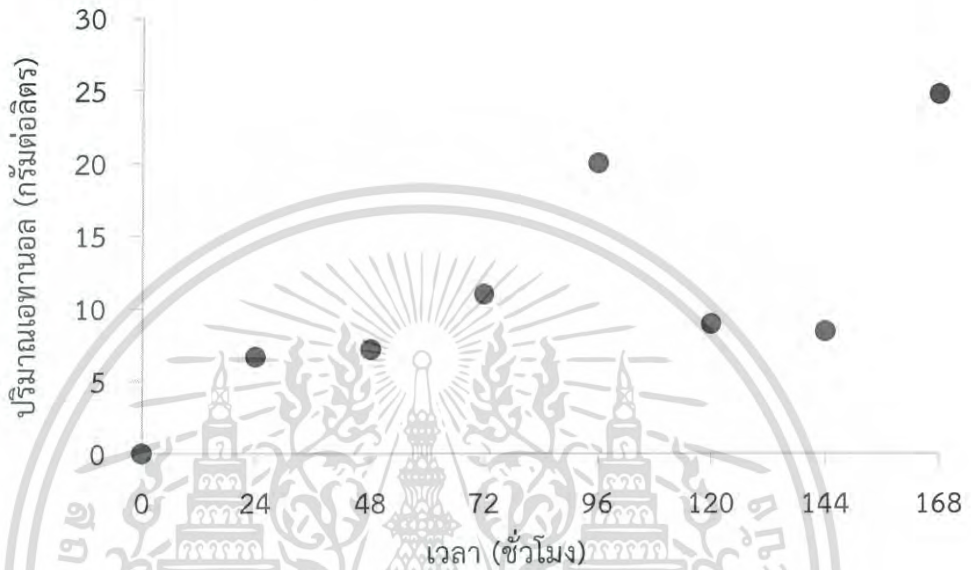
ตารางที่ 4.7 จำนวนเซลล์ยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) |
|----------------|-------------------------------------|
| 24 | 4.135×10^7 |
| 48 | 3.475×10^7 |
| 72 | 2.975×10^7 |
| 96 | 7.100×10^7 |
| 120 | 6.670×10^7 |
| 144 | 7.770×10^7 |
| 168 | 3.220×10^7 |

จากการติดตามการเจริญเติบโตของยีสต์ พบว่า ตลอดระยะเวลาการหมัก 7 วัน รูปร่างเซลล์ของยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีลักษณะเป็นทรงกลม เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์พบว่า จำนวนเซลล์ของยีสต์มีค่าระหว่าง 2.975×10^7 - 7.770×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.7) ซึ่งจัดว่ามีค่าค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ยังสามารถเจริญในสารละลายกลูโคส (รายละเอียดการคำนวณจำนวนเซลล์ยีสต์ดังแสดงในภาคผนวก ข.3)

เมื่อนำสารละลายที่ได้จากการหมักที่เวลาต่างกัน มาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี พร้อมกับคำนวณปริมาณเอทานอลที่วัดได้ ได้ผลดังในรูปที่ 4.7 (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข.4 และ ตารางที่ ข.8)



รูปที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาในการหมักต่างๆ

จากรูปที่ 4.7 พบว่ายีสต์ที่เติมลงในสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตรสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อผลิตเป็นเอทานอลได้ดังจะเห็นได้จากปริมาณเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.66 กรัมต่อลิตร ภายหลังจากการหมัก 24 ชั่วโมงเป็น 7.18 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 หลังจากชั่วโมงที่ 72 เป็น 10.99 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 โดยมีค่าเท่ากับ 20.01 กรัมต่อลิตร

4.3.3 ผลการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก

ผลการติดตาม ลักษณะของเซลล์ยีสต์ที่โตในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกเป็นเวลา 7 วัน เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.8

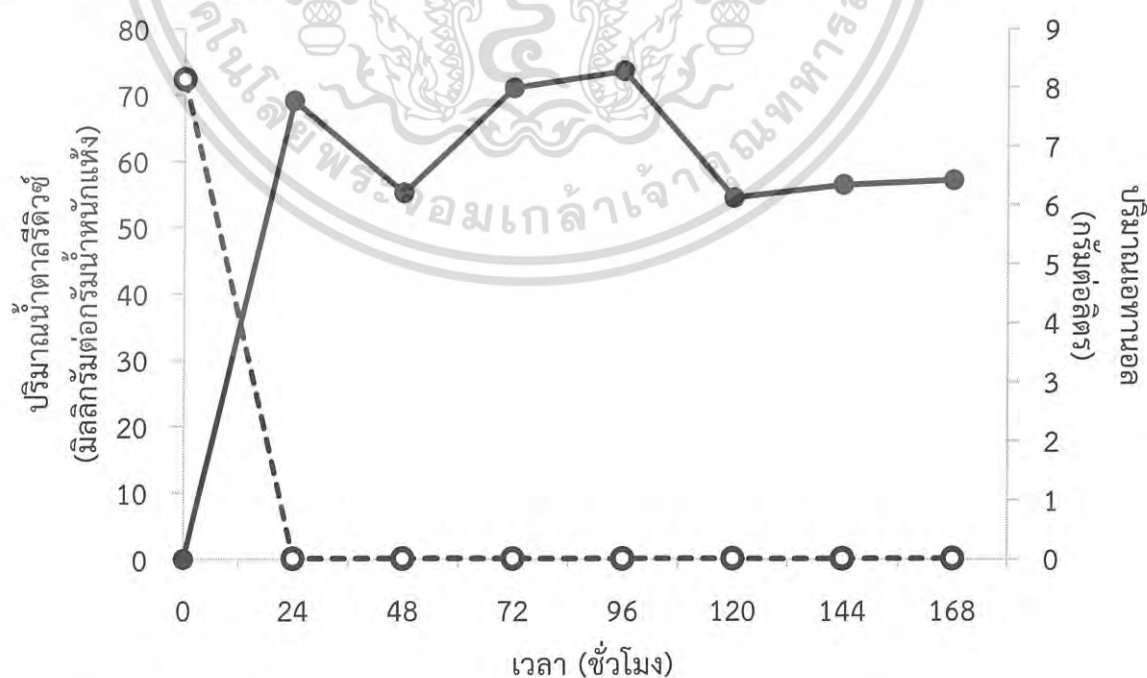
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 จำนวนเซลล์ยีสต์ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก(เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ยีสต์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) |
|----------------|--|
| 24 | 3.250×10^7 |
| 48 | 2.930×10^7 |
| 72 | 2.980×10^7 |
| 96 | 2.320×10^7 |
| 120 | 2.160×10^7 |
| 144 | 3.050×10^7 |
| 168 | 4.110×10^7 |

เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์พบว่า จำนวนเซลล์ของยีสต์มีค่าระหว่าง 2.160×10^7 - 4.110×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.8) ซึ่งจัดว่ามีค่าค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งยีสต์ที่เติมลงในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ 72.40 กรัมต่อลิตร สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อผลิตเป็นเอทานอลได้ดังจะเห็นได้จากปริมาณเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 7.78 กรัมต่อลิตร ภายหลังจากหมัก 24 ชั่วโมงเป็น 6.21 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 หลังจากชั่วโมงที่ 72 เป็น 7.99 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 โดยมีค่าเท่ากับ 8.28 กรัมต่อลิตรแสดงให้เห็นว่า ยีสต์ยังสามารถเจริญเติบโตในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ (รายละเอียดการคำนวณจำนวนเซลล์ยีสต์ดังแสดงในภาคผนวก ข.3)

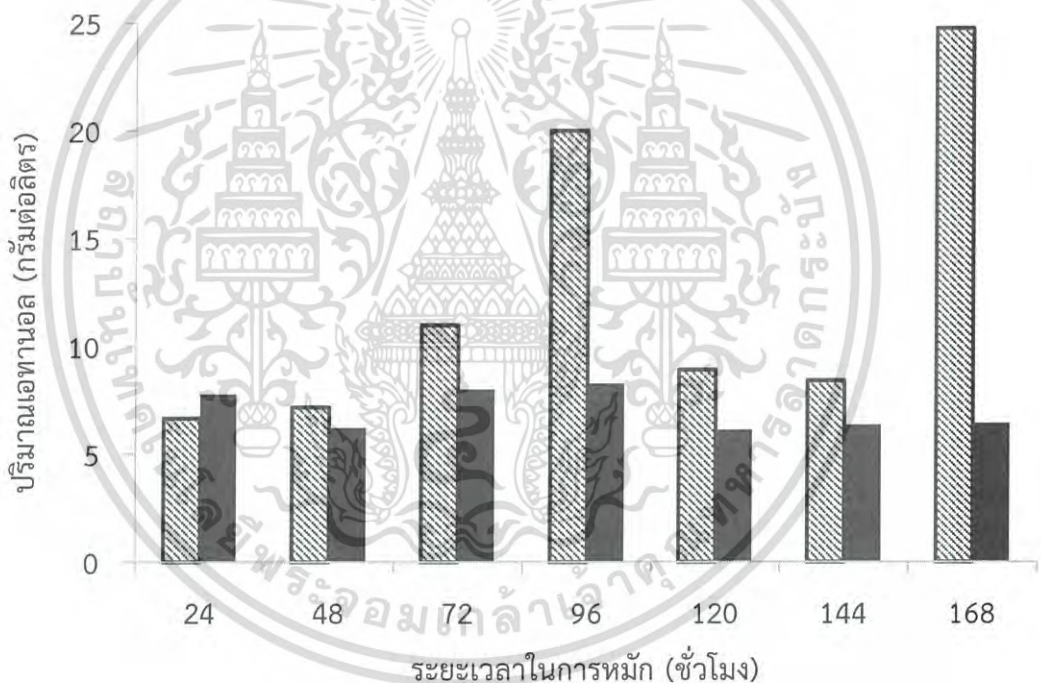
ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก แสดงดังรูปที่ 4.8 (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข.4 และ ตารางที่ ข.9)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานวิจัยเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 รูปที่ 4.8 ปริมาณเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก (กรัมต่อลิตร)
 ไม่ควรกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง ปริมาณเอทานอล (●-), ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (○-○) การทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.8 พบว่า ในวันที่ 0 ปริมาณน้ำตาลมีค่าสูง เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ปริมาณลดลงอย่างเด่นชัด เนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอล ดังจะเห็นได้จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือกที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง โดยที่ให้ค่าปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 8.28 กรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาผ่านไป ปริมาณเอทานอลที่ได้มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่เพียงพอยีสต์จึงไม่สามารถผลิตเอทานอลได้

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้ระหว่างสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพ พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายกลูโคสมีปริมาณที่มากกว่าเอทานอลที่ได้จากสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก (รูปที่ 4.9) ทั้งนี้อาจมีเหตุสำคัญมาจากสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยเปลือกเผือกที่นำมาทดลองมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำ จึงส่งผลให้ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสมีปริมาณที่ต่ำกว่ามาก



รูปที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (▨) และสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก (■)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ลักษณะของเปลือกเปลือกที่นำมาทดลอง

เป็นเส้นสีน้ำตาลเข้ม และมีเนื้อสีขาวติดอยู่ เมื่อผ่านกระบวนการตาก อบ บดได้ ตัวอย่างเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนขนาดเท่ากับ 20 เมช

5.1.2 การศึกษาผลของระยะเวลาและวิธีการปรับสภาพต่อชนิดและปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้

เวลาที่ใช้ในการปรับสภาพไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แต่วิธีการปรับสภาพมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการแช่น้ำกลั่น และการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 10% ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำกว่า เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS พบว่า การแช่น้ำกลั่นนาน 60 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 643.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และจากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิค HPLC พบน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลักในเปลือกเปลือก ซึ่งการแช่น้ำกลั่นนาน 60 นาที พบกลูโคสมากที่สุด เท่ากับ 15.00 กรัมต่อลิตร

5.1.3 ลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการหมัก

ยีสต์มีรูปร่างกลม เมื่อเข้าสู่กระบวนการหมักยีสต์มีจำนวนค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงแสดงว่ายีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ในสารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น และสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเปลือก

5.1.4 การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อหมักสารละลายกลูโคสเข้มข้น 250 mg/mL และสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเปลือกที่แช่น้ำกลั่นนาน 60 นาที ด้วยยีสต์ผงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 20.01 กรัมต่อลิตร และ 8.28 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกเปลือกด้วยวิธี Proximate Analysis วิเคราะห์องค์ประกอบของเยื่อใยด้วยวิธี Detergent method และศึกษาโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยด้วยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM) เพื่อให้ทราบถึงโครงสร้างภายในของเปลือกเปลือก

5.2.2 ควรมีการปรับสเกลขนาดที่ใช้หมักเอทานอล โดยที่สามารถบรรจุปริมาตรมากๆในขวดเดียว เพื่อให้เพียงพอกับระยะเวลาและปริมาณที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์ อีกทั้งยังประกันคุณภาพในส่วนของการหมักที่สภาวะเดียวกัน และมีปริมาณยีสต์ที่เท่ากัน

5.2.3 ควรมีการแยกเปลือกเปลือกออกจากเนื้อเปลือก จะได้ทราบถึงองค์ประกอบ และปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในเปลือกเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.4 ควรหมักสารละลายน้ำตาลรีตีวซ์จากเปลือกฝือกให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับสารละลายกลูโคส เพื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2551. “คู่มือการพัฒนาและการลงทุนผลิตพลังงานทดแทน ชุดที่ 7 เชื้อเพลิงเอทานอล.” กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน.
- เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, สิทธิโชค วัลลภาทิตย, บุญเรียง ล้ำชัยภูมิ และกล้าณรงค์ ศรีรอด. 2548. “โอกาสของมันสำปะหลังกับอุตสาหกรรมเอทานอลของไทย.” สมาคมแป้งมันสำปะหลังไทย. กรุงเทพฯ : หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ก่อสุข วุฒิบัญชร. 2553. “การออกแบบการทดลองตามวิธี Box-Behnken สำหรับการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขางข้าวฟ่างหวานด้วย *Trichoderma reesei*.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. 2558. เผือก. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=5&chap=5&page=t5-5-infodetail04.html>
- จิราภา อักโขวงศ์, ธัญชนก คำจันทร์, อารีย์ญา จันทาพูน. 2558. “การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกเผือก.” โครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชญาดา อ่วมกุล. 2551. “การคัดเลือกยีสต์เพื่อผลิตสารสีแคโรทีนอยด์.” ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์ บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชุตินา ศรีจิว. 2551. “การผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูงกับการหมักแบบแบดซ์และเฟดแบดซ์.” รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา.
- ชัยวัฒน์ เจนวานิชย์. 2524. *เคมีอินทรีย์พื้นฐาน*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- เทพปัญญา เจริญรัตน์. 2545. “การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังแบบครึ่งคราวโดยการเติมซบสแทรกขึ้นกับพีเอช.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นันทิกา คล้ายชม. 2554. “การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขางข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.
- ปริสา กันกำไร, วรัญญา วิทยาทอง และสุนีย์ ทับทิมเทศ. 2556. “การผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมักโดยสายพันธุ์กลายของ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017.” โครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2558. Active dried yeast/ยีสต์แห้ง.

[Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com>

ไม่วารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มะลิ นาชัยสินธุ์. 2552. “ปรากฏการณ์ถ่ายเทและการเสีรูปร่างของเปลือกแผ่นระหว่างกระบวนการอบแห้งแบบชั้นบาง.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีพลังงาน, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- ระวีวรรณ แก้วกล้า. 2537. “การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัชดาภรณ์ เบญจพัฒน์นันทน์. “โครงการวิจัยการศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบกะ.” งานวิจัย สาขาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.
- วรลักษณ์ คงจินตมณี. 2556. “การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สมใจ ศิริโกศ. 2544. *จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม*. กรุงเทพฯ : พิมพ์ดีจำกัด.
- สุวิชา ฤทธิเดช, จิราพร ยืนนาน และพัชราพร ร่มรักษ์. 2552. “การศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสม.” โครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อิสรี รอดทัศนาศนา. 2550. การปรับปรุงสภาพกากตะกอนเยื่อกระดาษเหลือทิ้งขั้นต้น เพื่อผลิตเอทานอลจากกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาล โดยใช้เอนไซม์และการหมัก. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bibb Swain. 1999. *The Alcohol Textbook*. 3rd ed. UK : Alltech Inc.
- Food And Agricultural Organization of United Nations (FAOSTAT). 2016. Taro. [Online]. Available : <http://faostat3.fao.org/home/E>
- Panchal, C.J. and Tavares, F.C.A. 1990. “Yeast strain selection for fuel ethanol production.” 225-243. in C.J. Panchal (ed.), *Yeast Strain Selection*. New York : Marcel Dekker Inc.
- Payne, J.H. Ley, G.J. and Akau, G. 1941. “Processing and Chemical Investigations of Taro.” in *Hawaii Agricultural Experiment Station Bulletin No. 86*. Honolulu : University of Hawaii.
- Reed, G. and Nagodawithana, T.W. 1991. *Yeast Technology*. New York : AVI/Van Nostrand Reinhold.
- Rose, A.H. and Harrison, J.S. 1971. *The yeasts*. vol. 2. London : Academic press.
- Woo, K.S. Kim, H.Y. Hwang, I.G. Lee, S.H. and Jeong, H.S. 2015. “Characteristics of the Thermal Degradation of Glucose and Maltose Solutions.” 102-109. in *Preventive Nutrition and Food Science Vol.20 No. 2*. Busan : The Korean Society of Food Science and Nutrition.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารและวิธีการวิเคราะห์

ก.1 การเตรียมสารในการปรับสภาพและการย่อยเปลือกเปลือก

1. สกัดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 %

ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์มา 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร คนให้ละลายจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นจึงเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 2000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ถ่ายสารละลายเก็บไว้ในขวดสีชา

2. สกัดสารละลายซัลฟิวริก 0.1 M

ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 96% มา 11.11 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 2000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ถ่ายสารละลายเก็บไว้ในขวดสีชา

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (วรารักษ์ และคณะ, 2556) โดยมีรายละเอียดวิธีการดังนี้

1) การเตรียมสาร

1. สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ซึ่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. สาร 3,5-dinitrosalicylic acid 1%

ซึ่ง DNS 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 M ปริมาตร 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน (ทำในตู้ดูดควัน) นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนจนได้สารละลายใส จากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมทราเทรตลงไปที่ละน้อยจนครบ 300 กรัม พร้อมกับคนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (ทำในตู้ดูดควัน) เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ถ่ายสารละลายเก็บไว้ในขวดสีชา

2) การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในหลอดทดลอง โดยใช้ปริมาตรดังแสดงในตารางที่ ก.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ก.1 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานเข้มข้น 0 , 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | ปริมาตรน้ำกลั่น (มิลลิลิตร) | ปริมาตรสารละลายกลูโคสมาตรฐานเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (มิลลิลิตร) |
|--|--------------------------------|--|
| 0 | 1.0 | 0 |
| 0.2 | 0.8 | 0.2 |
| 0.4 | 0.6 | 0.4 |
| 0.6 | 0.4 | 0.6 |
| 0.8 | 0.2 | 0.8 |
| 1.0 | 0 | 1.0 |

2. เติม 3,5-dinitrosalicylic acid 1% ลงไป 1 มิลลิลิตร
3. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที
4. แخذหลอดทดลองในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที
5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

3) การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

1. บีบสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง
2. เติม 3,5-dinitrosalicylic acid 1% ลงไป 1 มิลลิลิตร
3. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที
4. แخذหลอดทดลองในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที
5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

ก.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High performance Liquid Chromatography, HPLC)

ชนิดของน้ำตาลรีดิวซ์ทำการวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ HPLC ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

1.สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารละลายน้ำตาลมาตรฐานของกลูโคส กาแลกโตส และอะราบิโนส ที่ความเข้มข้น 0.0-1.0 กรัมต่อลิตร

2.ขั้นตอนหาชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดย HPLC

นำสารละลายตัวอย่างที่จะหาชนิดและปริมาณน้ำตาล และสารละลายน้ำตาลมาตรฐานของกลูโคส กาแลกโตส และอะราบิโนส ที่ความเข้มข้น 0.0-1.0 กรัมต่อลิตร ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยนำสารละลายน้ำตาลที่ได้ไปกรองผ่าน Syring Filter (ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร) จากนั้นนำตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรไปฉีดผ่านคอลัมน์ Rezex RPM Monosaccharide 00H-0135-K0 (300x7.8มิลลิลิตร) เติมน้ำกลั่นเป็นสารวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ทำการ

ตรวจวัดปริมาณสารที่ผ่านออกจากคอลัมน์ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบอาร์ไอ (RI Detector) ที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 75 องศาเซลเซียส จดบันทึกตำแหน่งของเวลาและพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรม (ตารางรูปที่ ข. 12) นำไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้น ดังรูปที่ ข.6

ก.4 การวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีฮีโมไซโตมิเตอร์

1. วาง Cover Glass บนฮีโมไซโตมิเตอร์ ซึ่งแผ่น Cover Glass จะอยู่เหนือผิวตาราง 0.1 มิลลิเมตร
2. ใช้ไมโครปิเปตดูดน้ำตัวอย่างมา 9-10 ไมโครลิตร (ใช้ทรอปเปอร์ปลายแหลม หรือ ปิเปตธรรมดาก็ได้)
3. วางปลายปิเปตใกล้ขอบ Cover Glass จากนั้นค่อยๆหยดตัวอย่างลงไป ซึ่งน้ำจะไหลเข้าไปใต้ Cover Glass เองจนเต็มพื้นที่ตาราง
4. นับจำนวนเซลล์ในตารางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ก็จะได้จำนวนเซลล์ยีสต์
5. คำนวณจำนวนเซลล์ในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิเมตร (รายละเอียดการคำนวณในภาคผนวก ข)

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography)

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 1.1 สารละลายเอทานอลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร
- 1.2 n-propanol เข้มข้น 10 % โดยปริมาตรใน acetone

2. สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

Column size : เป็น capillary column (DB-wax) เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 60 เมตร

Oven Temperature : 100 °C

Column Temperature : 70 °C

Injection Temperature : 200 °C

Detector : Flame-ionized detector (FID)

Carrier gas : Helium at 5 psi

3. วิธีการวิเคราะห์

1. เติม 10% n-propanol ใน acetone ลงในสารละลายเอทานอลมาตรฐานอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

2. ดูดสารผสม จำนวน 1 μ L ไปฉีดเข้าเครื่อง GC จากนั้นนำพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอล และ โพรพานอลที่ได้จากโครมาโตแกรมที่ได้ ไปคำนวณหาอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟระหว่างเอทานอลกับโพรพานอล

3. พล็อตกราฟระหว่างอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ กับความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมาตรฐานเอทานอลจะได้กราฟมาตรฐานดังรูปที่ ข.20 และข.21

4. เตรียมสารผสมของ 10% n-propanol กับสารละลายตัวอย่างในอัตราส่วนตามที่ได้

อธิบายในข้อ 2. จากนั้นดูดสารตัวอย่าง 1 μ L ไปฉีดเข้าเครื่อง GC ได้โครมาโตแกรมแล้ววัดอัตราส่วนพื้นที่ของเอทานอลต่อโพรพานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญตให้มาไปใช้ประโยชน์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟที่ได้ของสารละลายตัวอย่างไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของเอทานอลเป็นเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การผลิตเอทานอลจากเปลือกเฟือกที่ผ่านการปรับสภาพ

ข.1 การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

1. วิธีการคำนวณ

จากกราฟมาตรฐานจะได้ $Y = aX + b$

เมื่อ $Y =$ ค่าการดูดกลืนแสง, $X =$ ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร),

$a =$ ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน, $b =$ ค่าคงที่ของกราฟมาตรฐาน

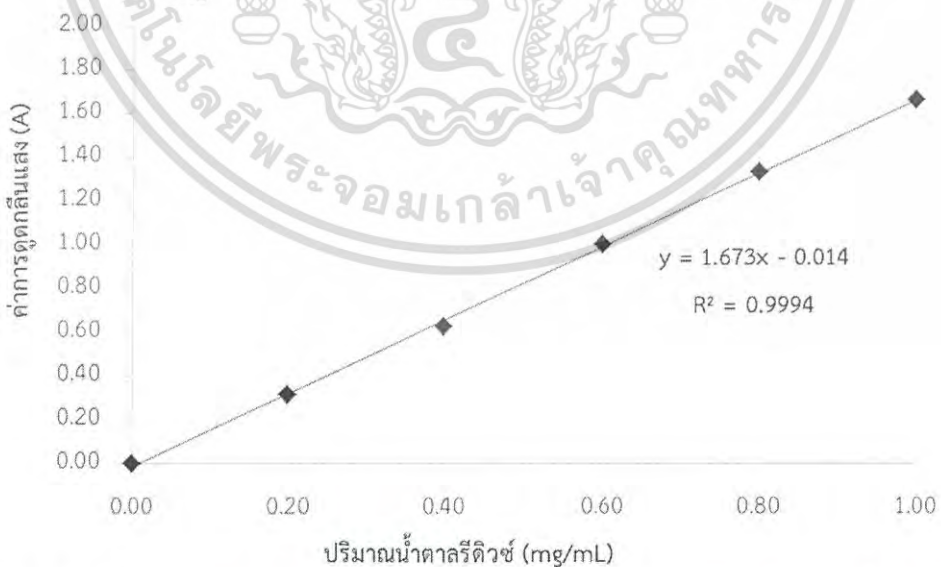
$$\text{ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (X)} = \frac{Y - b}{a}$$

ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง)} = \frac{[X][\text{อัตราค่าเจือจาง}][\text{ปริมาตรสารละลายที่เหลือ}]}{[\text{น้ำหนักเปลือกเฟือกเริ่มต้น}]}$$

เมื่อ $X =$ ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), ปริมาตรสารละลายที่เหลือ (มิลลิลิตร), น้ำหนักเปลือกเฟือกเริ่มต้น (กรัม)

2. กราฟมาตรฐาน



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นในส่วนของของเหลวขั้นต้น (Prehydrolysate)

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาท) | ครั้งที่ | Prehydrolysate | | | | | | |
|----------------|------------|----------|-------------------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาตรสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาตรที่เหลือ(mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| แช่น้ำกลั่น | 0 | 1 | 4.0070 | 120 | 103 | 0.416 | 0.2570 | 52.95 | 13.21 |
| | | 2 | 4.0041 | 120 | 100 | 0.459 | 0.2827 | 56.55 | 14.12 |
| | | 3 | 4.0028 | 120 | 103 | 0.167 | 0.1082 | 22.29 | 5.57 |
| | 15 | 1 | 4.0072 | 120 | 105 | 0.598 | 0.3658 | 76.82 | 19.17 |
| | | 2 | 4.0035 | 120 | 108 | 0.488 | 0.3001 | 64.81 | 16.19 |
| | | 3 | 4.0064 | 120 | 107 | 0.266 | 0.1674 | 35.82 | 8.94 |
| | 30 | 1 | 4.0087 | 120 | 104 | 0.929 | 0.5637 | 117.24 | 29.25 |
| | | 2 | 4.0085 | 120 | 104 | 0.302 | 0.1889 | 39.29 | 9.80 |
| | | 3 | 4.0039 | 120 | 103 | 1.143 | 0.6916 | 142.46 | 35.58 |
| | 60 | 1 | 4.0036 | 120 | 107 | 0.885 | 0.5374 | 114.99 | 28.72 |
| | | 2 | 4.0050 | 120 | 106 | 0.927 | 0.5625 | 119.24 | 29.77 |
| | | 3 | 4.0069 | 120 | 98 | 0.837 | 0.5087 | 99.70 | 24.88 |

ตารางที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันในส่วนของการของเหลวขั้นต้น (Prehydrolysate)

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาที) | ครั้งที่ | Prehydrolysate | | | | | | |
|-------------------------|-------------|----------|-------------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาตรสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาตรที่เหลือ (mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน | 15 | 1 | 4.0049 | 120 | 85 | 1.001 | 0.6068 | 103.15 | 25.76 |
| | | 2 | 4.0036 | 120 | 90 | 1.233 | 0.7454 | 134.17 | 33.51 |
| | | 3 | 4.0010 | 120 | 89 | 1.380 | 0.8332 | 148.32 | 37.07 |
| | 30 | 1 | 4.0065 | 120 | 87 | 0.382 | 0.2367 | 41.19 | 10.28 |
| | | 2 | 4.0045 | 120 | 81 | 1.411 | 0.8518 | 137.99 | 34.46 |
| | | 3 | 4.0070 | 120 | 86 | 1.365 | 0.8243 | 141.77 | 35.38 |
| | 60 | 1 | 4.0019 | 120 | 81 | 1.301 | 0.7860 | 127.33 | 31.82 |
| | | 2 | 4.0004 | 120 | 81 | 0.512 | 0.3144 | 50.93 | 12.73 |
| | | 3 | 4.0050 | 120 | 82 | 1.069 | 0.6473 | 106.16 | 26.51 |

ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ในส่วนของของเหลวขั้นต้น(Prehydrolysate)

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาท) | ครั้งที่ | Prehydrolysate | | | | | | |
|---|------------|----------|-------------------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาตรสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาตรที่เหลือ(mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% | 15 | 1 | 10.0065 | 300 | 258 | 1.039 | 0.6294 | 324.77 | 32.46 |
| | | 2 | 10.0094 | 300 | 257 | 1.005 | 0.6091 | 313.07 | 31.28 |
| | | 3 | 10.0024 | 300 | 261 | 1.106 | 0.6695 | 349.46 | 34.94 |
| | 30 | 1 | 10.0072 | 300 | 254 | 1.116 | 0.6754 | 343.12 | 34.29 |
| | | 2 | 10.0037 | 300 | 259 | 1.175 | 0.7107 | 368.14 | 36.80 |
| | | 3 | 10.0070 | 300 | 258 | 1.165 | 0.7047 | 363.64 | 36.34 |
| | 60 | 1 | 10.0092 | 300 | 257 | 1.180 | 0.7137 | 366.84 | 36.65 |
| | | 2 | 10.0071 | 300 | 266 | 1.117 | 0.6760 | 359.65 | 35.94 |
| | | 3 | 10.0053 | 300 | 257 | 1.253 | 0.7573 | 389.26 | 38.91 |

ตารางที่ ข.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นในส่วนของ Hydrolysate

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาท) | ครั้งที่ | Hydrolysis | | | | | | |
|----------------|------------|----------|-------------------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาตรสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาตรที่เหลือ(mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| แช่น้ำกลั่น | 0 | 1 | 1.0098 | 30 | 25 | 0.684 | 0.4172 | 521.52 | 516.46 |
| | | 2 | 1.0059 | 30 | 25 | 0.752 | 0.4579 | 572.33 | 568.97 |
| | | 3 | 1.0033 | 30 | 23 | 0.744 | 0.4531 | 521.04 | 519.33 |
| | 15 | 1 | 1.0046 | 30 | 24 | 0.889 | 0.5396 | 647.56 | 644.59 |
| | | 2 | 1.0021 | 30 | 21 | 0.878 | 0.5332 | 559.83 | 558.66 |
| | | 3 | 1.0021 | 30 | 22 | 0.902 | 0.5475 | 602.27 | 601.01 |
| | 30 | 1 | 1.0018 | 30 | 23 | 0.853 | 0.5182 | 595.97 | 594.89 |
| | | 2 | 1.0027 | 30 | 23 | 0.923 | 0.5601 | 644.08 | 642.35 |
| | | 3 | 1.0031 | 30 | 24 | 0.774 | 0.4710 | 565.21 | 563.47 |
| | 60 | 1 | 1.0019 | 30 | 23 | 0.991 | 0.6007 | 690.82 | 689.51 |
| | | 2 | 1.0004 | 30 | 24 | 0.913 | 0.5541 | 664.91 | 664.65 |
| | | 3 | 1.0060 | 30 | 24 | 0.793 | 0.4824 | 578.84 | 575.39 |

ตารางที่ ข.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันในส่วนของ Hydrolysate

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาที) | ครั้งที่ | Hydrolysis | | | | | | |
|-------------------------|-------------|----------|-------------------------------|--------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาณสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาณที่เหลือ(mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน | 15 | 1 | 1.0045 | 30 | 21 | 0.840 | 0.5105 | 535.98 | 533.58 |
| | | 2 | 1.0094 | 30 | 22 | 1.278 | 0.7723 | 849.49 | 841.58 |
| | | 3 | 1.0028 | 30 | 23 | 1.014 | 0.6145 | 706.63 | 704.66 |
| | 30 | 1 | 1.0012 | 30 | 23 | 0.899 | 0.5457 | 627.59 | 626.83 |
| | | 2 | 1.0008 | 30 | 21 | 0.590 | 0.3610 | 379.08 | 378.78 |
| | | 3 | 1.0045 | 30 | 23 | 0.821 | 0.4991 | 573.97 | 571.40 |
| | 60 | 1 | 1.0076 | 30 | 23 | 0.658 | 0.4017 | 461.92 | 458.44 |
| | | 2 | 1.0026 | 30 | 22 | 0.828 | 0.5033 | 553.62 | 552.18 |
| | | 3 | 1.0009 | 30 | 23 | 0.763 | 0.4644 | 534.10 | 533.62 |

ตารางที่ ข.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ในส่วนของ Hydrolysate

| สารที่ปรับสภาพ | เวลา (นาที) | ครั้งที่ | Hydrolysis | | | | | | |
|--|-------------|----------|-------------------------------|--------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | น้ำหนักเปลือกเผือกเริ่มต้น(g) | ปริมาณสารละลายที่ใช้(mL) | ปริมาณที่เหลือ(mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (A) | ปริมาณน้ำตาล mg/mL | ปริมาณน้ำตาล (mg/mL) ของของเหลว | ปริมาณน้ำตาล mg/g |
| การใช้ไอน้ำภายใต้แรงดัน ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% | 15 | 1 | 1.0005 | 30 | 23 | 0.660 | 0.4029 | 463.30 | 463.07 |
| | | 2 | 1.0004 | 30 | 23 | 0.570 | 0.3491 | 401.43 | 401.27 |
| | | 3 | 1.0004 | 30 | 23 | 0.681 | 0.4154 | 477.73 | 477.54 |
| | 30 | 1 | 1.0002 | 30 | 21 | 0.622 | 0.3802 | 399.16 | 399.08 |
| | | 2 | 1.0008 | 30 | 22 | 0.668 | 0.4077 | 448.42 | 448.06 |
| | | 3 | 1.0001 | 30 | 27 | 0.617 | 0.3772 | 509.18 | 509.12 |
| | 60 | 1 | 1.0000 | 30 | 24 | 0.496 | 0.3048 | 365.81 | 365.81 |
| | | 2 | 1.0008 | 30 | 28 | 0.546 | 0.3347 | 468.62 | 468.24 |
| | | 3 | 1.0005 | 30 | 25 | 0.578 | 0.3539 | 442.32 | 442.10 |

ข.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิค HPLC

1. กราฟมาตรฐาน

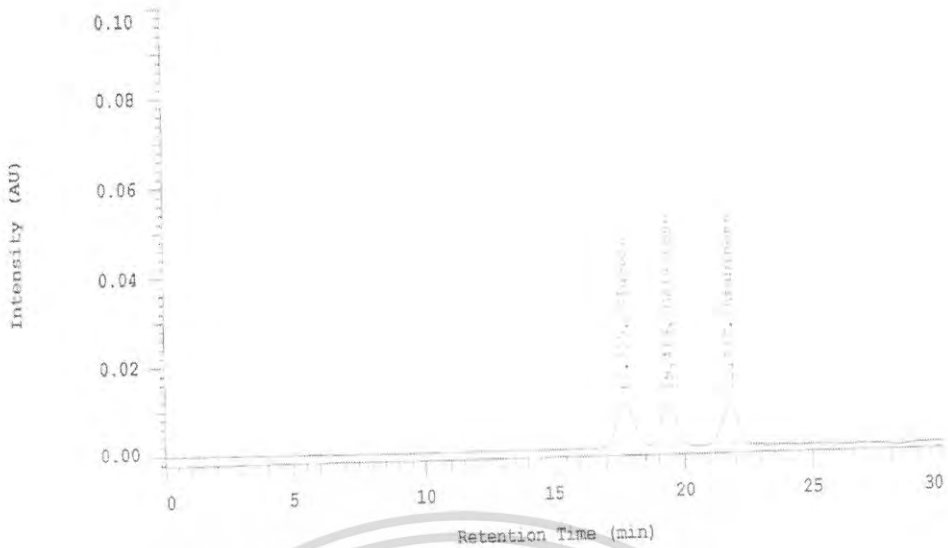
ตารางรูปที่ ข.7 ตำแหน่งเวลา และพื้นที่ใต้กราฟโครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และอะราบิโนสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1,0.25,0.5,1.0

| ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร) | ชนิดน้ำตาลรีดิวซ์ | | |
|------------------------------|--------------------|----------|-----------|
| | กลูโคส | กาแลกโตส | อะราบิโนส |
| | ตำแหน่งเวลา (นาที) | | |
| | | 17.72 | 19.41 |
| พื้นที่ใต้กราฟ (mV) | | | |
| 0.1 | 68214 | 63548 | 61643 |
| 0.25 | 207119 | 198351 | 188063 |
| 0.5 | 438180 | 424518 | 401069 |
| 1.0 | 898781 | 878464 | 828900 |



รูปที่ ข.2 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

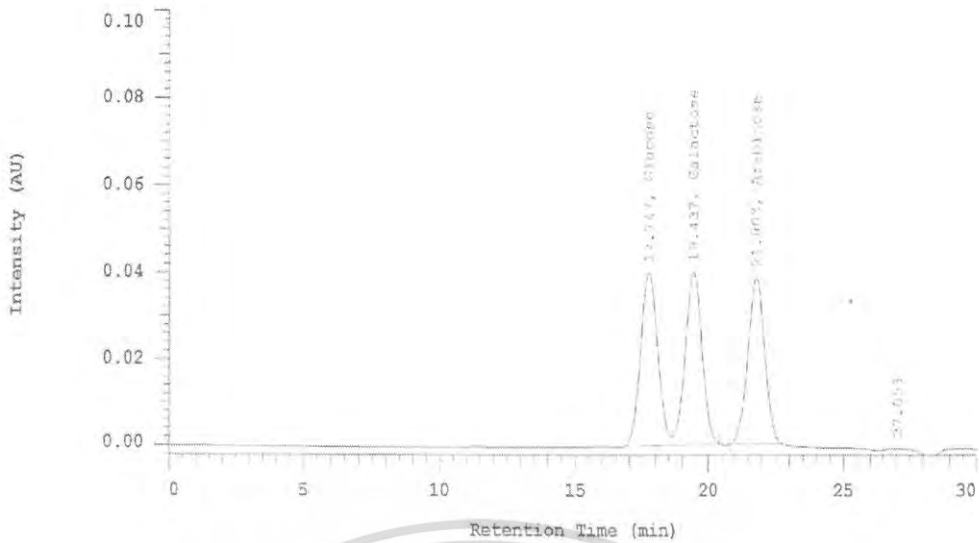


รูปที่ ข.3 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแล็กโตส และ อะราบิโนสมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

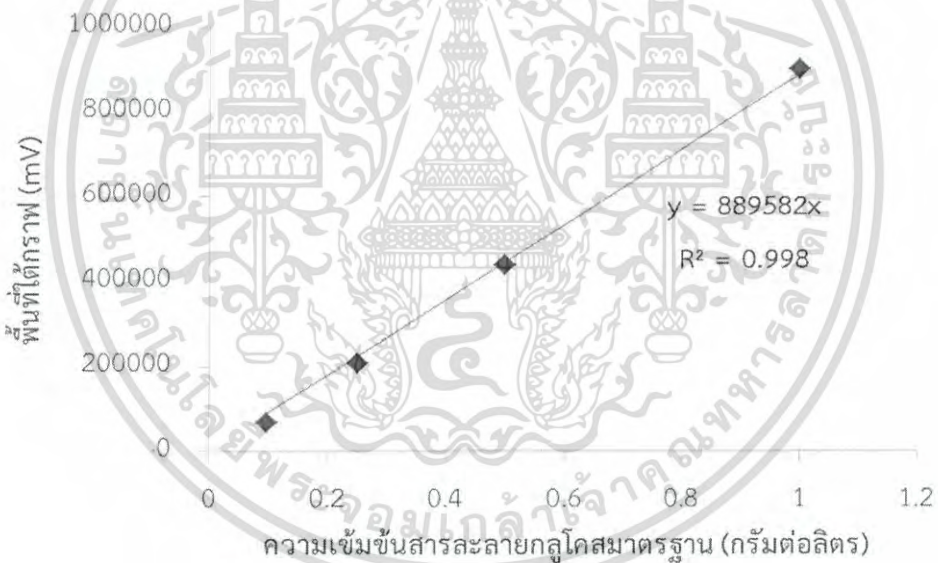


รูปที่ ข.4 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแล็กโตส และ อะราบิโนสมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

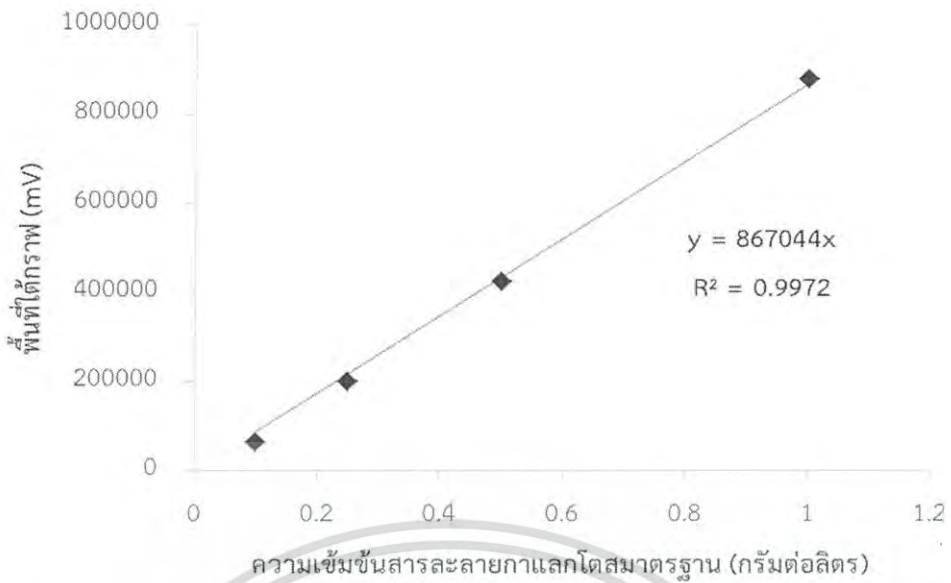


รูปที่ ข.5 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลคโตส และ อะราบินอสมมาตรฐาน ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



รูปที่ ข.6 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC กับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.7 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC กับความเข้มข้นของสารละลายกาแล็กโตส



รูปที่ ข.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC กับความเข้มข้นของสารละลายอะราบิโนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{พื้นที่ใต้กราฟโครมาโตแกรม}) \times (\text{อัตราการเจือจาง})}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส และอะราบิโนส ที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นระยะเวลา 60 นาที (อัตราการเจือจางเท่ากับ 10) มีผลดังนี้

ตารางรูปที่ ข.8 ตำแหน่งเวลา และพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส และอะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นระยะเวลา 60 นาที (อัตราการเจือจางเท่ากับ 10)

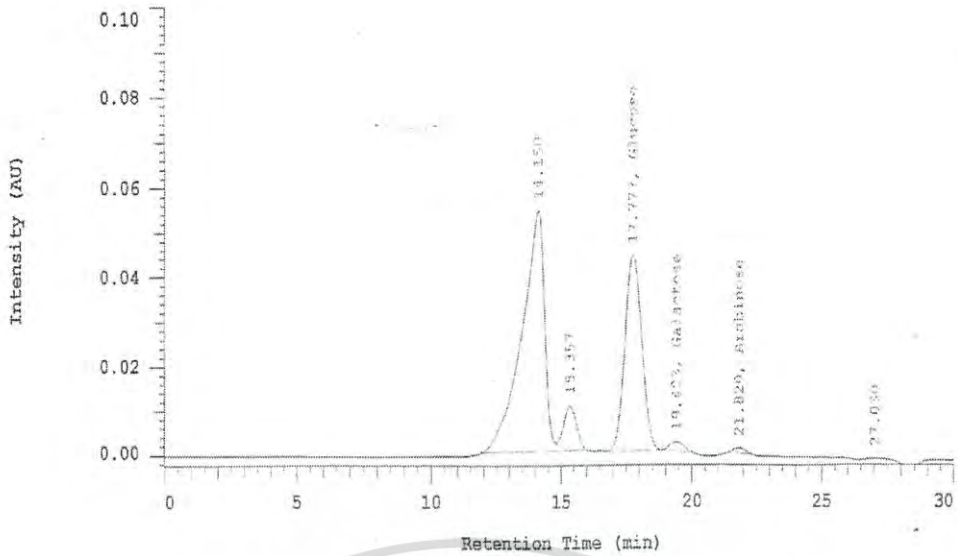
| ชนิดน้ำตาลรีดิวซ์ | ตำแหน่งเวลา (นาที) | พื้นที่ใต้กราฟ (mV) |
|-------------------|--------------------|---------------------|
| กลูโคส | 17.770 | 1335060 |
| กาแลกโตส | 19.437 | 46123 |
| อะราบิโนส | 21.823 | 10793 |

$$\text{ปริมาณน้ำตาลกลูโคส} = \frac{1335060 \times 10}{889582} = 15.007 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

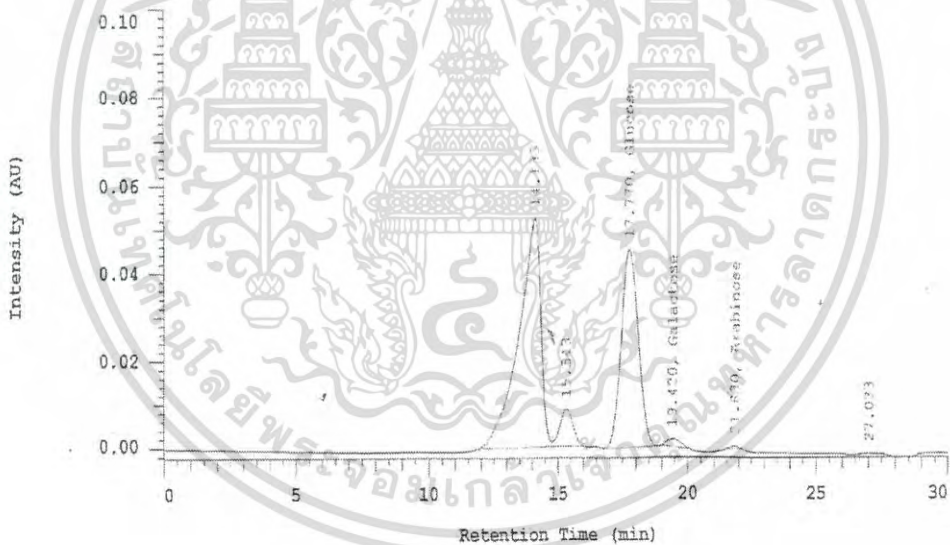
$$\text{ปริมาณน้ำตาลกาแลกโตส} = \frac{46123 \times 10}{867044} = 0.5319 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

$$\text{ปริมาณน้ำตาลอะราบิโนส} = \frac{10793 \times 10}{818612} = 0.1318 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

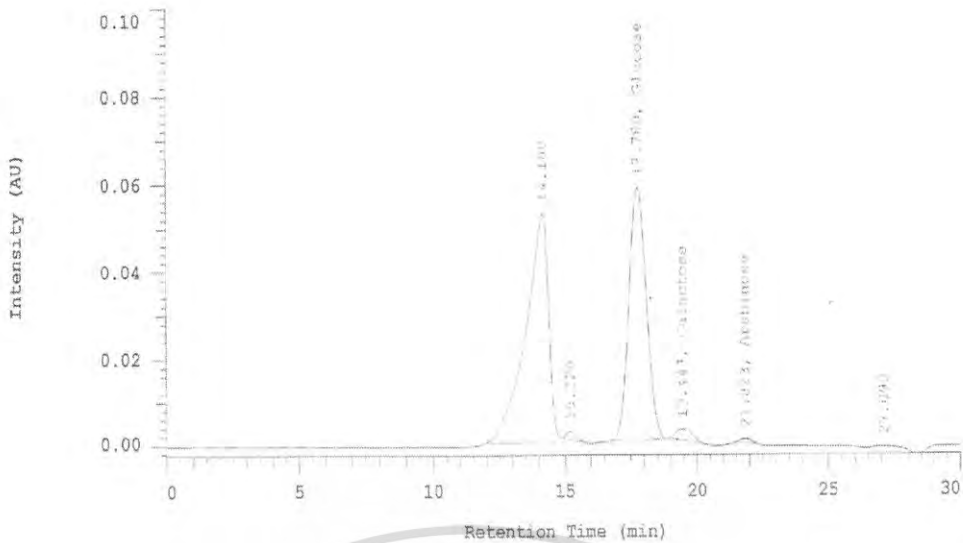


รูปที่ ข.9 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จาก ส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่ น้ำกลั่นระยะเวลา 0 นาที



รูปที่ ข.10 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์ จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่ น้ำกลั่น ระยะเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

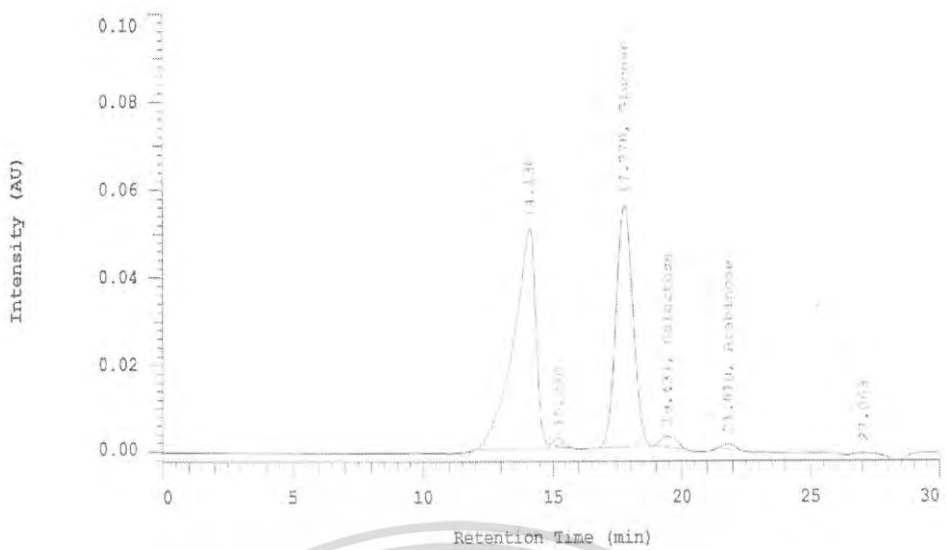


รูปที่ ข.11 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นระยะเวลา 30 นาที



รูปที่ ข.12 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่น้ำกลั่นระยะเวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

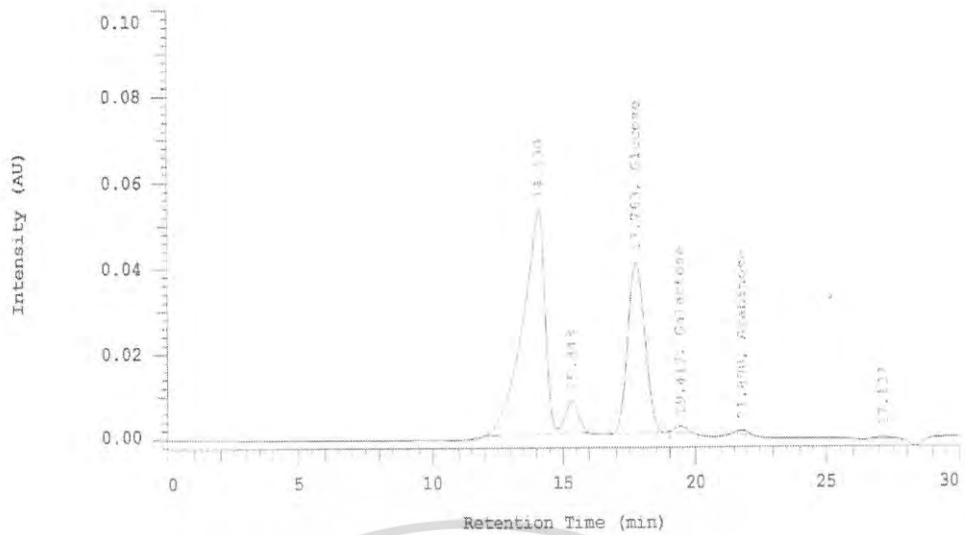


รูปที่ ข.13 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จาก ส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันระยะเวลา 15 นาที



รูปที่ ข.14 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันระยะเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

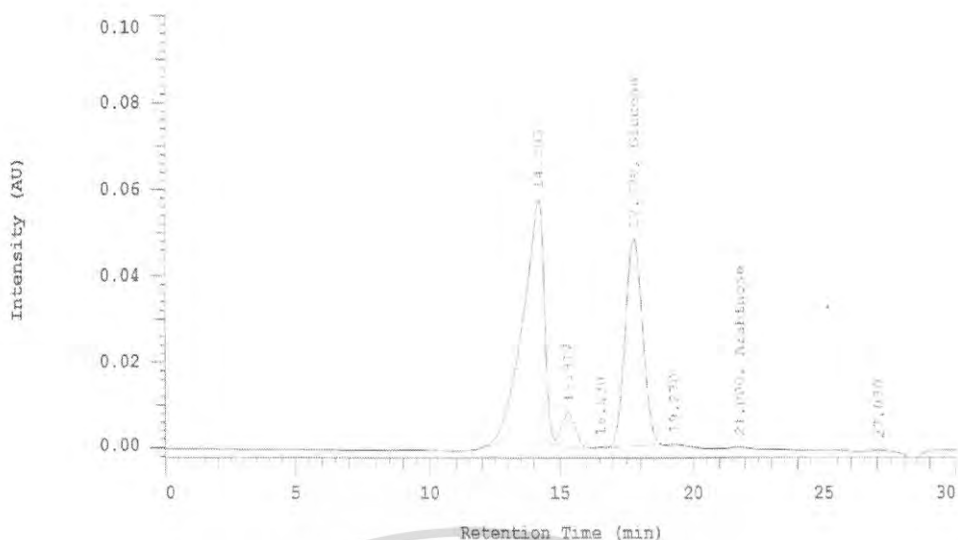


รูปที่ ข.15 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบินอสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันระยะเวลา 60 นาที



รูปที่ ข.16 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลกโตส และ อะราบินอสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ระยะเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



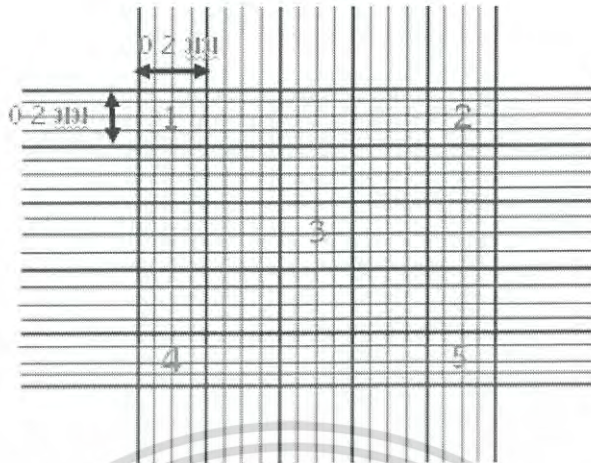
รูปที่ ข.17 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลคโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ระยะเวลา 30 นาที



รูปที่ ข.18 โครมาโตแกรมของสารละลายกลูโคส กาแลคโตส และ อะราบิโนสที่วิเคราะห์จากส่วนของเหลว Hydrolysate ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการใช้น้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ระยะเวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 การคำนวณหาจำนวนเซลล์ยีสต์



รูปที่ ข.19 ตารางภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

จากรูปที่ ข.19 คือตารางบนผิวฮีโมไซโตมิเตอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ช่องที่ 1 2 3 4 และ 5 มีความกว้างและยาวเท่ากับ 0.2 มิลลิเมตร ดังนั้นปริมาตรน้ำของช่อง 1,2,3,4 และ 5 ช่องใดช่องหนึ่งเท่ากับ

$$\begin{aligned} \text{ความกว้าง} \times \text{ความยาว} \times \text{ความลึก} &= 0.2 \times 0.2 \times 0.1 \text{ มิลลิเมตร} \\ &= 0.000004 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร} \\ &= 0.000004 \text{ มิลลิลิตร} \\ &= 4 \times 10^{-6} \text{ มิลลิลิตร} \end{aligned}$$

ดังนั้นหากเลือกนับเซลล์ที่ช่อง 1 2 3 4 และ 5 ความหนาแน่นของเซลล์จะเท่ากับ

$$\text{จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)} = \text{ค่าเฉลี่ยเซลล์ทั้ง 5 ช่อง} \times 1/4 \times 10^6$$

ยกตัวอย่าง จำนวนเซลล์ของการหมักในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกในวันที่ 5 โดยมีเซลล์ ในช่องที่ 1=80, ช่องที่ 2=84, ช่องที่ 3=80, ช่องที่ 4 =95, ช่องที่ 5= 89

$$\begin{aligned} \text{จำนวนเซลล์} &= [(80+84+80+95+89)/5] \times 1/4 \times 10^6 \\ &= 85.6 \times 1/4 \times 10^6 \\ &= 21.4 \times 10^6 \\ &= 2.14 \times 10^7 \text{ เซลล์ต่อมิลลิลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4 การคำนวณปริมาณเอทานอลด้วย GC-FID

1. วิธีการคำนวณ

ข้อมูลผลการวัดตัวอย่างวันที่ 1 ของการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก ซึ่งมีปริมาตรสารที่กลั่นได้เท่ากับ 4.8 mL เมื่อนำพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อโพรพานอลที่ได้จาก โครมาโตแกรมไปคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอล จากนั้นนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานจะให้ความเข้มข้นเอทานอลที่วัดได้ คือ 10.25 % โดยปริมาตร

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรของเอทานอลในสารที่กลั่นได้(mL)} &= (4.8 \text{ mL distillate}) \left(\frac{10.25 \text{ mL EtOH}}{100 \text{ mL distillate}} \right) \\ &= 0.492 \text{ mL EtOH} \end{aligned}$$

แปลงค่าปริมาตรของเอทานอล เป็นน้ำหนักด้วยการคูณกับความหนาแน่นของเอทานอล (0.79 g/mL) ดังนั้น ปริมาณเป็นกรัมของเอทานอลใน distillate = $(0.492 \text{ mL EtOH}) \left(\frac{0.79 \text{ g EtOH}}{\text{mL}} \right)$

$$= 0.3886 \text{ g}$$

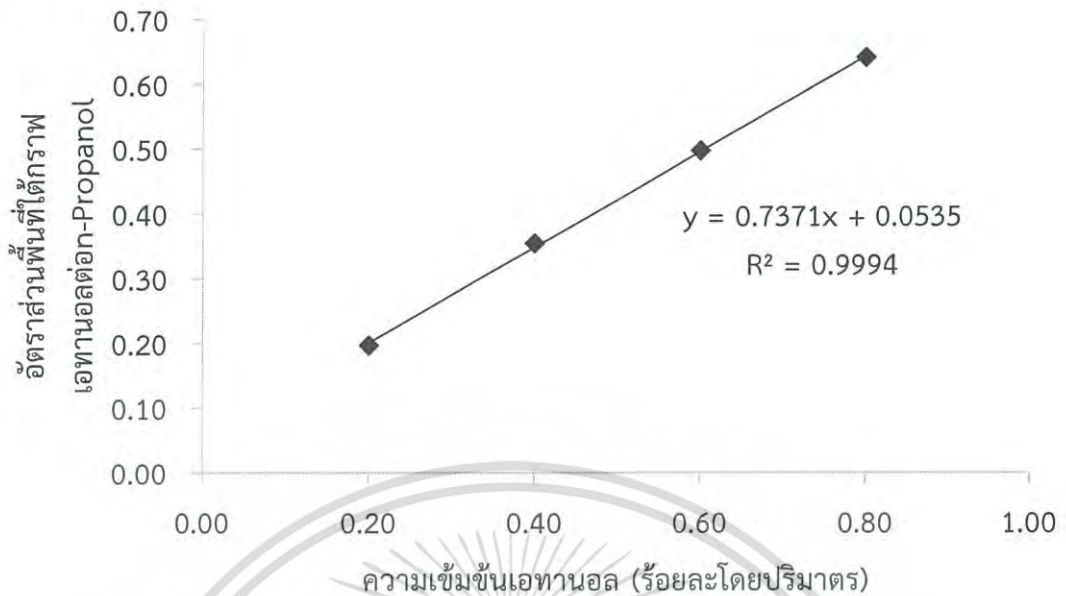
ความเข้มข้นของเอทานอลเป็นกรัมต่อลิตร

$$= \left(\frac{0.3886 \text{ g EtOH}}{50 \text{ mL}} \right) \left(1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} \right)$$

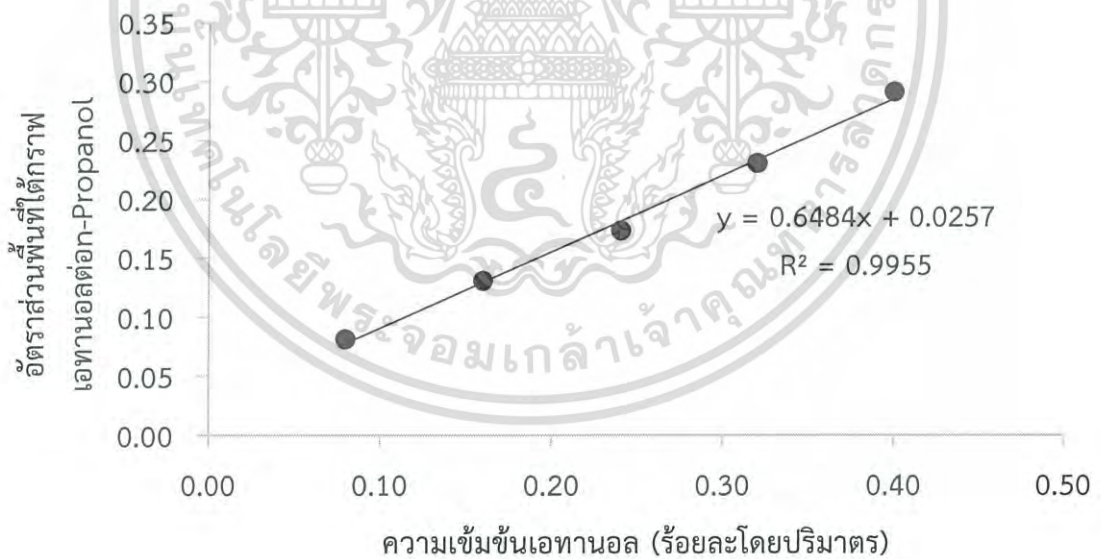
$$= 7.772 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กราฟมาตรฐาน



รูปที่ ข.20 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อ n-Propanol กับความเข้มข้นเอทานอล (ร้อยละ) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เอทานอลที่เกิดจากการหมักเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน



รูปที่ ข.21 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อ n-Propanol กับความเข้มข้นเอทานอล (ร้อยละ) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เอทานอลที่เกิดจากการหมักเอทานอลในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

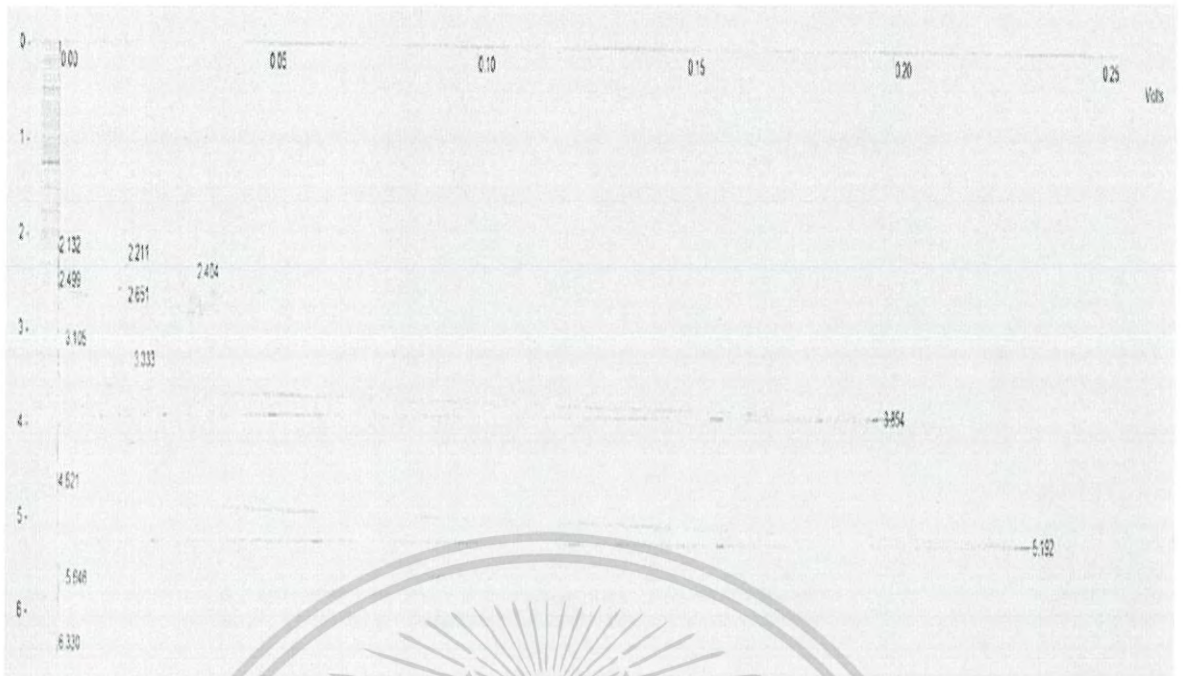


รูปที่ ข.22 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ ข.23 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.24 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 72 ชั่วโมง



รูปที่ ข.25 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.26 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 120 ชั่วโมง



รูปที่ ข.27 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 144 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.28 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 168 ชั่วโมง

ตารางที่ ข.8 ปริมาณเอทานอลหน่วยกรัมต่อกิโลกรัม และกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการหมักเอทานอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนระยะเวลา 7 วัน

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาตร ตัวอย่าง | ปริมาตร ที่กลั่น เหลือ | % เอทานอล | ปริมาณ เอทานอล ตัวอย่าง | $m(g)=d*v$ ($d=0.79$ g/mL) | g/L |
|----------------|------------------|------------------------|-----------|-------------------------|-----------------------------|-------|
| 24 | 50 | 2 | 21.09 | 0.4218 | 0.3332 | 6.66 |
| 48 | 50 | 1 | 45.42 | 0.4542 | 0.3588 | 7.18 |
| 72 | 50 | 1 | 69.55 | 0.6955 | 0.5494 | 10.99 |
| 96 | 50 | 2.5 | 50.65 | 1.2663 | 1.0003 | 20.01 |
| 120 | 50 | 1 | 56.45 | 0.5645 | 0.4460 | 8.92 |
| 144 | 50 | 1 | 53.25 | 0.5325 | 0.4207 | 8.41 |
| 168 | 50 | 4 | 39.15 | 1.5660 | 1.2371 | 24.74 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.29 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ ข.30 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.31 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 72 ชั่วโมง



รูปที่ ข.32 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.33 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 120 ชั่วโมง



รูปที่ ข.34 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 144 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.35 โครมาโตแกรมปริมาณเอทานอล และ n-Propanol ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 168 ชั่วโมง

ตารางที่ ข.9 ปริมาณเอทานอลหน่วยกรัมต่อกิโลกรัม และกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการหมักเอทานอล
ในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเปลือกเผือกระยะเวลา 7 วัน

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาตร ตัวอย่าง | ปริมาตรที่ กลั่นเหลือ | % เอทานอล | ปริมาณ เอทานอล ตัวอย่าง | $m(g)=d*v$ ($d=0.79$ g/mL) | g/L |
|-------------------|---------------------|--------------------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------------|------|
| 24 | 50 | 4.8 | 10.25 | 0.4920 | 0.3887 | 7.78 |
| 48 | 50 | 1.1 | 35.73 | 0.3930 | 0.3105 | 6.21 |
| 72 | 50 | 5.4 | 9.37 | 0.5060 | 0.3997 | 7.99 |
| 96 | 50 | 6.6 | 7.94 | 0.5240 | 0.4140 | 8.28 |
| 120 | 50 | 1.6 | 24.23 | 0.3877 | 0.3063 | 6.13 |
| 144 | 50 | 3.3 | 12.17 | 0.4016 | 0.3173 | 6.35 |
| 168 | 50 | 2.3 | 17.68 | 0.4066 | 0.3212 | 6.43 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การคำนวณค่าทางสถิติ
การวิเคราะห์ Two-Way ANOVA

ตารางที่ ค.1 ผลการเปรียบเทียบวิธีการปรับสภาพเปลือกเปลือกที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Student-Newman-Keuls, Tukey HSD และ Duncan

| วิธีการ | N | Subset | |
|-------------------------------------|--------------------|--------|------------|
| | | 1 | 2 |
| Student-Newman-Keuls ^{a,b} | Autoclave+NaOH 10% | 9 | 476.8756 |
| | Autoclave | 9 | 605.3978 |
| | แช่น้ำกลั่น | 9 | 637.4256 |
| | Sig. | | 1.000 .400 |
| Tukey HSD ^{a,b} | Autoclave+NaOH 10% | 9 | 476.8756 |
| | Autoclave | 9 | 605.3978 |
| | แช่น้ำกลั่น | 9 | 637.4256 |
| | Sig. | | 1.000 .671 |
| Duncan ^{a,b} | Autoclave+NaOH 10% | 9 | 476.8756 |
| | Autoclave | 9 | 605.3978 |
| | แช่น้ำกลั่น | 9 | 637.4256 |
| | Sig. | | 1.000 .400 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6220.872.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 ผลการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ปรับสภาพเปลือกเปลือกที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Student-Newman-Keuls, Tukey HSD และ Duncan

| | เวลา | N | Subset |
|-------------------------------------|---------|---|----------|
| | | | 1 |
| Student-Newman-Keuls ^{a,b} | 30 นาที | 9 | 555.1278 |
| | 60 นาที | 9 | 557.3189 |
| | 15 นาที | 9 | 607.2522 |
| | Sig. | | .361 |
| Tukey HSD ^{a,b} | 30 นาที | 9 | 555.1278 |
| | 60 นาที | 9 | 557.3189 |
| | 15 นาที | 9 | 607.2522 |
| | Sig. | | .361 |
| Duncan ^{a,b} | 30 นาที | 9 | 555.1278 |
| | 60 นาที | 9 | 557.3189 |
| | 15 นาที | 9 | 607.2522 |
| | Sig. | | .201 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6220.872.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 ผลการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ปรับสภาพเปลือกเผือกด้วยการแช่น้ำกลั่นที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Student-Newman-Keuls, Tukey HSD และ Duncan

| | เวลา | N | Subset for alpha = 0.05 |
|-----------------------------------|---------|---|----------------------------|
| | | | 1 |
| Student-Newman-Keuls ^a | 15 นาที | 3 | 616.1867 |
| | 30 นาที | 3 | 625.1133 |
| | 60 นาที | 3 | 670.9767 |
| | Sig. | | .385 |
| Tukey HSD ^a | 15 นาที | 3 | 616.1867 |
| | 30 นาที | 3 | 625.1133 |
| | 60 นาที | 3 | 670.9767 |
| | Sig. | | .385 |
| Duncan ^a | 15 นาที | 3 | 616.1867 |
| | 30 นาที | 3 | 625.1133 |
| | 60 นาที | 3 | 670.9767 |
| | Sig. | | .216 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.4 ผลการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้รับสภาพเปลือกเผือกด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Student-Newman-Keuls, Tukey HSD และDuncan

| | เวลา | N | Subset for alpha = |
|-----------------------------------|---------|---|--------------------|
| | | | 0.05 |
| | | | 1 |
| Student-Newman-Keuls ^a | 60 นาที | 3 | 538.4333 |
| | 30 นาที | 3 | 552.3733 |
| | 15 นาที | 3 | 725.3867 |
| | Sig. | | .207 |
| Tukey HSD ^a | 60 นาที | 3 | 538.4333 |
| | 30 นาที | 3 | 552.3733 |
| | 15 นาที | 3 | 725.3867 |
| | Sig. | | .207 |
| Duncan ^a | 60 นาที | 3 | 538.4333 |
| | 30 นาที | 3 | 552.3733 |
| | 15 นาที | 3 | 725.3867 |
| | Sig. | | .110 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 ผลการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ปรับสภาพเปลือกเปลือกด้วยการใช้ไอน้ำภายใต้แรงดันร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Student-Newman-Keuls, Tukey HSD และ Duncan

| | เวลา | N | Subset for alpha = |
|-----------------------------------|---------|---|--------------------|
| | | | 0.05 |
| | | | 1 |
| Student-Newman-Keuls ^a | 60 นาที | 3 | 462.5467 |
| | 15 นาที | 3 | 480.1833 |
| | 30 นาที | 3 | 487.8967 |
| | Sig. | | .820 |
| Tukey HSD ^a | 60 นาที | 3 | 462.5467 |
| | 15 นาที | 3 | 480.1833 |
| | 30 นาที | 3 | 487.8967 |
| | Sig. | | .820 |
| Duncan ^a | 60 นาที | 3 | 462.5467 |
| | 15 นาที | 3 | 480.1833 |
| | 30 นาที | 3 | 487.8967 |
| | Sig. | | .576 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้